

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE
DES
AFFECTIONS TYPHOÏDES
ET PARATYPHOÏDES

AU COURS DE LA CAMPAGNE 1914-1915

THÈSE

PRÉSENTÉE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

PAR

P. JOUFFROY

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

Né à Geneuille (Doubs) le 17 décembre 1880

SOUTENUE LE 6 MARS 1916 DEVANT LE JURY D'EXAMEN

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : { MM. GUÉRIN, *Président*,
GRÉLOT,
SARTORY, } *Juges.*

NANCY

IMPRIMERIE BERGER-LEVRAULT

18, RUE DES GLACIS, 18

1916

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE

DES

AFFECTIIONS TYPHOÏDES
ET PARATYPHOÏDES

AU COURS DE LA CAMPAGNE 1914-1915

THÈSE

PRÉSENTÉE A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)



PAR

P. JOUFFROY

PHARMACIEN DE 1^{re} CLASSE

Né à Geneuille (Doubs) le 17 décembre 1880

SOUTENUE LE 6 MARS 1916 DEVANT LE JURY D'EXAMEN

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : { MM. GUÉRIN, *Président*.
GRÉLOT,
SARTORY, } *Juges.*

NANCY

IMPRIMERIE BERGER-LEVRAULT

18, RUE DES GLACIS, 18

—
1916

Directeur : M. BRUNTZ I^U, [§].

Assesseur : M. FAVREL I^U.

Professeurs :

MM. FAVREL I ^U	Chimie organique.
GRÉLOT I ^U	Pharmacie galénique.
BRUNTZ I ^U , [§]	Matière médicale.
GUÉRIN I ^U	Analyse chimique et Toxicologie.

Chargés de cours magistraux :

MM. SARTORY ^U , [§]	Pharmacie chimique.
LAVIALLE.	Histoire naturelle (Botanique).

Agrégé en exercice :

M. DOURIS	Chimie et Toxicologie.
---------------------	------------------------

Agrégé libre :

M. GIRARDET I ^U	Chimie et Toxicologie.
--------------------------------------	------------------------

Chargés de cours complémentaires :

MM. FAVREL I ^U	Chimie minérale et Minéralogie.
DOURIS	Physique.
HOLLANDE	Histoire naturelle (Zoologie).
BUSQUET ^U	Pharmacodynamie.
DOURIS	Chimie biologique.
GRÉLOT I ^U	Hydrologie et Géologie.
SARTORY ^U , [§]	Microbiologie.
VERNIER ^U	Hygiène.
N.	Législation.

Chargé de cours libre :

M. SARTORY ^U , [§]	Mycologie.
--	------------

Chefs de travaux :

MM. GIRARDET I ^U	Chimie, Analyse chimique et Toxicologie.
HOLLANDE	Micrographie.
ROCHE.	Pharmacie.
VERNIER ^U	Microbiologie et Parasitologie.
PILOT I ^U , chargé des travaux.	Physique.

Secrétariat :

MM. ROVEL I ^U	Secrétaire.
BERTRAND I ^U	} Commis.
TRIBOLET	
F. LAMBERT DES CILLEULS [§] , [§] , I ^U	Secrétaire honoraire.

L'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les improuver.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR A. SARTORY

Hommage respectueux.

INTRODUCTION

Aux premiers jours de la guerre je fus affecté à l'Hôpital militaire Sédillot à Nancy, en qualité de pharmacien aide-major. Après avoir, au service d'évacuation des blessés, vécu les heures tragiques du début de la campagne, où les Allemands purent un instant croire fondés leurs espoirs avoués d'une occupation rapide de notre capitale de l'Est, j'eus la bonne fortune, une fois tout danger passé, d'être affecté à un service plus conforme à mes goûts. J'entrai au laboratoire régional de la 20^e région (secteur de Nancy). C'est à ce laboratoire ainsi qu'à celui de l'École supérieure de Pharmacie de Nancy, que j'ai effectué les recherches qui constituent l'objet du présent travail.

Des circonstances éminemment favorables au développement des affections typhiques amenèrent rapidement dans les hôpitaux de la ville de Nancy et des environs un nombre considérable de malades; le laboratoire, très scientifiquement installé, voyait affluer les analyses susceptibles d'apporter aux cliniciens confirmation de leur diagnostic. M. le Professeur SARTORY, de l'École supérieure de Pharmacie de Nancy, dirigeait ces nom-

breux travaux. Sous la direction d'un tel maître, le faible bagage bactériologique de mes études antérieures devait rapidement s'accroître : agglutinations et hémocultures devinrent pour moi, après un assez long apprentissage, des opérations familières. C'est alors que M. le Professeur SARTORY voulut bien diriger mes travaux. C'est sous l'inspiration de ce Maître éminent, dont j'ai toujours observé le profond sens scientifique, l'esprit d'observation, de méthode et de logique rigoureuse, que j'ai entrepris cette étude ; guidé par ses savants conseils, je me suis efforcé, tout en remplissant mes devoirs militaires, de consigner mes méthodes de travail et leurs conclusions pratiques. Qu'il me soit aussi permis d'offrir ici l'expression de ma gratitude à mon excellent camarade M. Ph. LASSEUR, dont l'amitié s'effaroucherait si j'énumérais ici tous les titres qu'il peut avoir à ma reconnaissance.

Dans ce modeste travail, je ne prétends pas avoir le mérite de l'originalité, mais j'espère apporter une faible contribution à la recherche pratique et à l'étiologie des diverses affections typhoïdes.

J'insisterai particulièrement sur l'agglutination et l'hémoculture et sur la valeur de ces deux méthodes.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE BACTÉRIOLOGIQUE

DES

AFFECTIONS TYPHOÏDES

ET PARATYPHOÏDES

AU COURS DE LA CAMPAGNE 1914-1915

CHAPITRE I

DE L'AGGLUTINATION

HISTORIQUE

C'est en 1889 que CHARRIN et ROGER (1) observent pour la première fois le phénomène de l'agglutination. Ces savants, opérant avec des sérums purs d'animaux immunisés vis-à-vis du *Bacillus pyocyaneus* GESSARD, remarquent le fait suivant :

Tandis que, dans les bouillons et sérums normaux, le Bacille du pus bleu donne un trouble homogène, dans les immunsérums au contraire il n'en produit pas; le liquide reste clair et transparent; seul, un dépôt plus ou moins abondant s'observe au fond du tube. Dans ces dernières cultures, l'examen microscopique montre des éléments réunis en chaînettes ou des cellules, qui au lieu de nager librement, comme cela s'observe dans les cultures ordinaires, se réunissent en amas. Ces amas, en s'enchevêtrant, constituent le dépôt que l'on observe macroscopiquement.

Deux ans plus tard, METCHNIKOFF (2), étudiant le *Vibrio Metchnikowi* et le microbe de la pneumonie, constate l'agglomération de ces microbes par les immunsérums correspondants; les observations de ce savant sont confirmées en 1893 par ISAEFF et IVANOFF (3).

METCHNIKOFF (4) était prêt à donner une portée générale à ces phénomènes d'agglutination, mais n'observant plus la même réaction avec le microbe de la pneumo-entérite des porcs, il en délaissa l'étude.

C'est à BORDET (5) et à son collaborateur GENGOU que revient l'honneur d'avoir créé la doctrine des anticorps. Dans ses mémorables travaux sur les propriétés actives des immunsérums, BORDET montre que, non seulement les sérums purs, mais encore les sérums dilués jouissent de la propriété d'immobiliser, d'agglomérer les Bacilles correspondants.

Cette découverte de BORDET est capitale; l'agglutination spécifique pour un sérum déterminé devient susceptible d'être utilisée dans la diagnose des espèces.

Peu de temps après, WIDAL et SICARD (1897) (6), poursuivant des recherches cliniques sur les affections typhoïdes et paratyphoïdes, constatent la propriété agglutinante du sérum sanguin dès l'apparition des premiers symptômes de la maladie. Ils concluent à « une réaction de la période d'infection et non à une réaction d'immunité ».

GRÜBER et DÜRRHAM (1897) tentent également de vulgariser la méthode de BORDET.

Depuis, un nombre considérable d'auteurs ont étudié l'agglutination. J'aurai l'occasion d'énumérer leurs différents travaux au cours de cette étude.

Je me bornerai pour l'instant à rappeler les recherches de CASTELLANI (8), qui se rapprochent sensiblement, à mon avis, des travaux de BORDET.

PRINCIPE DE L'AGGLUTINATION

Lorsqu'on inocule à un animal des cellules d'origine animale ou des Bactéries, le sérum de cet animal présente au bout de quelque temps la propriété de réunir en amas les cellules ou Bactéries correspondantes. Prenons un exemple : un lapin reçoit des quantités progressives de culture de Bacille typhique ; après un certain nombre d'injections, le sérum de ce lapin possède la propriété d'agglutiner le Bacille typhique. Si une goutte du mélange, sérum et culture, est placée entre lame et lamelle sous le champ du microscope, on constate que les Bactéries, très mobiles d'ordinaire, perdent peu à peu leur motilité. Elles se réunissent en amas de plus en plus volumineux ; si le pouvoir agglutinant du sérum est assez prononcé, on ne trouve plus en dernière analyse que de gros amas, et plus aucune cellule mobile.

Macroscopiquement, il est possible de constater le même phénomène ; il suffit pour cela d'ajouter une certaine quantité de sérum antityphique. La culture, qui précédemment offrait un trouble homogène, devient peu à peu grumeleuse. Quelque temps après, ces grumeaux, augmentant de taille, se précipitent au fond du vase et forment un dépôt. Le liquide surnageant devient clair et limpide ; par agitation, on obtient de nouveau le trouble précédent, suivi bientôt d'une sédimentation complète par repos.

Tel est, décrit rapidement, le phénomène de l'agglutination.

Cette agglutination ou séro-réaction constitue aujourd'hui une opération journalière de laboratoire ; peut-être a-t-on considéré cette réaction comme excessivement simple et nécessitant peu de précautions spéciales ? Ainsi envisagée, l'agglutination peut fournir des résultats erronés.

J'essaierai de démontrer que l'agglomération et l'immobilisation des Bactéries par les immunsérums sont fonction de nombreux facteurs.

J'étudierai successivement :

- 1° Les agglutinines;
- 2° La densité microbienne des cultures;
- 3° L'agglutinabilité des Bacilles;
- 4° L'influence des agents physiques et chimiques;
- 5° Le taux d'agglutination et le phénomène paradoxal.

DES AGGLUTININES

On admet volontiers aujourd'hui la présence, dans le sérum sanguin d'un animal préparé, de substances spéciales, d'*agglutinines* en particulier, capables de produire ce phénomène d'immobilisation et d'agglomération. Quelle que soit l'hypothèse admise pour expliquer cette action, on peut, sans préjuger de la valeur de ces vues de l'esprit, envisager l'*agglutination* comme résultant d'une combinaison (au sens large du mot) de l'*agglutinine* et du corps microbien, ou plutôt avec une substance spéciale ou *substance agglutinable* contenue dans ce corps microbien.

En homologuant le phénomène d'agglutination à une combinaison chimique, on peut donc prévoir *a priori* que certaines règles doivent présider aux détails de l'agglutination.

En effet, pour saturer une molécule d'acide sulfurique, il faut une quantité correspondante et bien déterminée d'une base. Parallèlement, on peut admettre qu'il faille une quantité déterminée de substance agglutinable pour saturer une quantité d'agglutinine donnée.

De là, la nécessité, pour mesurer le pouvoir agglutinant,

d'utiliser des cultures offrant la même richesse en cellules bactériennes, c'est-à-dire renfermant un même nombre de germes dans un volume déterminé (1 cm³ par exemple), en un mot, qu'elle soit de même *densité microbienne*.

Supposons en effet un sérum sanguin renfermant

y agglutinines

s'il est mis au contact d'une culture renfermant

x bactéries ou $\frac{x}{2}$ bactéries

d'après ce que l'on sait sur les saturations, les taux limites d'agglutination sur l'une ou l'autre de ces cultures seront nettement différents (1).

Dans l'impossibilité pratique où l'on est de déterminer rapidement la richesse bactérienne d'une culture, différents auteurs ont proposé d'évaluer cette richesse en comparant l'intensité du trouble de la culture avec celui que l'on peut réaliser expérimentalement par des agents chimiques.

Il est possible d'obtenir en solution aqueuse un trouble constant, en faisant réagir l'un sur l'autre deux sels précipitants; la seule qualité exigible de ces mélanges est de donner un précipité fin qui dépose difficilement, de manière à produire un louche persistant.

A cet effet, SACQUÉE (1901) (10) a préconisé l'emploi du nitrate d'argent et du chlorure de sodium. J'ai eu l'occasion d'utiliser ce procédé : il offre des avantages, mais peut-être le noircissement du sel d'argent est-il gênant.

NICOLLE (1904) (11) fait réagir une solution de bichro-

(1) Je ferai remarquer de suite que ces taux limites ne seront pas dans le rapport de 1 à 2, car la saturation des anticorps ne s'effectue pas suivant la loi des proportions multiples.

mate de potasse à $1/1000^{\circ}$ sur une solution d'acétate neutre de plomb à $1/1000^{\circ}$. A 100 cm³ cubes de solution d'acétate neutre de plomb, il ajoute cinq gouttes de la première solution pour obtenir le trouble voulu.

J'ai employé moi-même dans ce but une suspension d'amidon de riz dans une solution glycinée. A 20 gr d'eau distillée glycinée à $1/10^{\circ}$, j'ajoute en délayant au mortier d'agate 2 gr d'amidon de riz très fin. J'obtiens ainsi une émulsion qui se dépose très lentement, et même, lorsque la précipitation est complète, l'agitation donne de nouveau un liquide de louche désiré à ondes moirées, présentant tous les caractères apparents d'une culture bactérienne.

AMAS SPONTANÉS

Lorsque le milieu microbien est parvenu au trouble souhaité par comparaison avec les liquides précédents, il est nécessaire de l'examiner préalablement au microscope, car il peut renfermer des amas spontanés.

RÉNON (1897) (12) et NICOLLE Ch. (1898) (13) attirent l'attention sur le fait que certaines cultures typhiques présentent une exagération telle de cette agglutination spontanée que, au bout de vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37° , on n'observe qu'un maigre développement; l'examen microscopique montre des amas assez nombreux. Abandonnées à la température ordinaire, ces cultures se clarifient rapidement. L'aspect est donc en réalité assez voisin de celles traitées par les immunsérums. En outre, elles sont peu sensibles à l'action de ces immunsérums. Remarquons que toutes les cultures un peu âgées présentent un phénomène analogue; outre le trouble voulu, on doit donc employer des cultures de seize à vingt-quatre heures.

ÉMULSIONS DE BACILLES

Dans le but de simplifier ces diverses opérations, certains auteurs remplacent la culture proprement dite sur bouillon par des émulsions dans l'eau physiologique de cultures sur gélose de vingt-quatre heures. Dans ces conditions, l'émulsion primitive est abandonnée au repos, pour permettre aux grumeaux de se déposer. Une centrifugation légère donne une émulsion homogène qui peut être utilisée suivant les besoins. Quelques gouttes de formol ajoutées au mélange assurent une meilleure conservation.

Pour obtenir une émulsion plus homogène, j'opère ainsi : je délaie la culture dans une quantité déterminée d'eau physiologique, et centrifuge longuement. Le dépôt remis en suspension dans la même quantité d'eau physiologique, je centrifuge très légèrement afin d'enlever les dépôts spontanés, et décante à la pipette. Un lavage plus prononcé diminuerait l'agglutinabilité du Bacille.

PRÉSENCE D'UN VOILE

La présence d'un voile abondant à la surface d'une culture peut être une cause d'erreur. Ce voile, en effet, est constitué par un amas considérable de Bacilles, qui peu à peu se précipitent dans le milieu. Le prélèvement sans précaution à l'aide d'une pipette entraîne après elle des fragments de ce voile et, sous le microscope, donne l'impression d'une agglutination.

Pour éviter ce voile, comme le recommande NICOLLE (13), il est nécessaire d'utiliser des bouillons simples ou solutions de peptone à 2 %, neutres et non alcalins. Dans

le repiquage des cultures, le prélèvement pour un nouvel ensemencement doit se pratiquer au-dessous du voile; de ce fait, les cultures deviennent de plus en plus homogènes.

LAFFORGUE (1908) (30), dans un autre ordre d'idées, emploie une technique analogue pour l'obtention d'émulsions homogènes.

AGGLUTINABILITÉ DU BACILLE

Dans la mesure du taux d'agglutination, l'agglutinabilité du Bacille d'EBERTH a une importance capitale.

J. COLE (1904) (15), JOHNSON, TUGGART, VAN DEN VELDE (1897) (18), RODET (1897) (17), COURMONT (1897) (24), NICOLLE (1898) (19), CAMBIER (1901) (22), RÉMY (1901) (16), EMERY, etc., ont montré que les divers échantillons de Bacilles d'EBERTH ne sont pas également agglutinables.

S'il est possible de rencontrer des Bacilles plus agglutinables que le Bacille d'EBERTH type, ainsi que le montre SACQUÉPÉE (1901) (10), on observe plus fréquemment des races de Bacilles dont l'aptitude agglutinative est plus faible que celle de l'échantillon moyen.

Ainsi COURMONT (1901) (27), sur neuf échantillons qu'il avait isolés, en trouve huit dont l'aptitude agglutinative était inférieure de $1/4$ à celle du Bacille d'EBERTH type.

NICOLLE (1902) (21), après avoir isolé de dix rates de typhiques autant de Bacilles typhiques, conclut que ces différentes espèces se montrent le plus souvent sensibles au sérum spécifique. Toutefois, dans un certain nombre de cas, cette sensibilité est très affaiblie ou nulle.

SACQUÉPÉE (1901) (10) dans la rate, et BANOL dans des suppurations d'origine typhique, ont isolé des échantillons de Bacille d'EBERTH inagglutinables.

Quelles pouvaient être les causes de ces agglutinabilités variables?

NICOLLE et TRENEL (1902) (21) crurent voir un rapport étroit entre l'agglutinabilité et la motilité; les microbes très mobiles seraient très agglutinables, et, inversement, les microbes peu mobiles seraient peu ou pas agglutinables, d'après ces auteurs.

LESIEUR (1903) (25), au contraire, prétend qu'il n'y a pas de rapport absolu entre la motilité et l'agglutinabilité primitive ou artificiellement développée.

Comme LESIEUR, je pense que si, fréquemment, les germes les plus mobiles sont les plus agglutinables, souvent aussi les germes les moins mobiles, après un certain nombre de passages sur milieux artificiels, ont un maximum d'agglutinabilité sur les précédents. En outre, par les passages successifs, on n'observe pas toujours le parallélisme qu'a voulu voir NICOLLE entre le développement de la motilité et celui de l'agglutinabilité.

En raison de cette instabilité, il s'agissait donc de fixer des races déterminées de Bacilles à agglutinabilité type maxima.

SEHRWALD (1905) (26) proposait d'exalter artificiellement l'agglutinabilité des Bacilles en les faisant passer sur pomme de terre; d'après cet auteur, l'agglutination apparaîtrait rapidement, ce qui permettrait de réaliser la séro-réaction dans un temps très court.

HILGERMANN (28) en 1908 avait préconisé la technique indiquée antérieurement par FALTA et NOGGEROTH, technique qui consiste à effectuer la séro-réaction, non pas sur une culture dérivant d'une seule race bactérienne, mais sur une culture mixte de plusieurs échantillons de Bacilles typhiques. A l'aide de ce procédé, dans des cas à réaction faible égale à 1/30° au maximum par les procédés ordinaires, l'auteur obtenait des agglutinations à 1/60° et 1/120°.

J'ai cherché à me rendre compte de la valeur des méthodes de SEHRWALD et HILGERMANN.

Par le procédé SEHRWALD, je n'ai pas obtenu de résultats supérieurs à ceux que donnent les passages successifs sur bouillon; mais, étant données les variations de composition des pommes de terre, il est possible que mes milieux n'aient pas été aussi favorables que ceux de l'auteur.

La méthode d'HILGERMANN, basée sur des cultures mixtes, ne m'a pas semblé être supérieure au procédé ordinaire. Je crois pouvoir en donner l'explication suivante :

Dans les cultures mixtes, même en admettant que l'on aitensemencé au début une même quantité de différents échantillons de Bacille d'EBERTH, il est très rare qu'une de ces races ne se développe pas plus abondamment et ne donne de ce fait son cachet particulier à la culture. En définitive, une telle culture ne renferme, au bout de vingt-quatre heures, presque uniquement que des races qui prolifèrent extraordinairement au détriment des autres.

J'ai eu, après ces auteurs, maintes fois l'occasion d'observer des différences d'agglutinabilité ⁽¹⁾ entre les divers échantillons isolés du sang des typhiques, et il résulte pratiquement de mes constatations que l'on ne saurait rejeter comme Bacille d'EBERTH des formes qui présentent tous les caractères de cette Bactérie, mais qui, dès les premiers passages, seraient peu ou pas agglutinables. Il faut au préalable faire subir au Bacille une série de passages successifs sur bouillon peptoné; si, dans ce cas, l'agglutinabilité n'augmente pas, il est possible que l'on soit en présence d'un *Bacillus typhosus*, mais la prudence conseille de l'éliminer.

(1) Hugo ROBICHEK et NATONEK (1905) (29) constatent même des différences d'agglutinabilité entre les échantillons retirés des divers organes d'un même malade.

Ces différentes agglutinabilités des Bactéries m'ont incité à employer presque exclusivement les types fournis par l'Institut PASTEUR, types qui, à mon avis, sont les plus stables. J'ai pu cependant utiliser d'autres races isolées directement du sang des éberthiens. J'ensemence ces Bacilles sur gélose et, dans la série des colonies obtenues, j'ai pu trouver des races plus agglutinables après plusieurs passages sur bouillon.

Indépendamment de ces différences d'agglutinabilité dans les races de Bactéries, il peut se présenter, dans la pratique de l'agglutination, de nouvelles variations dans cette agglutinabilité par suite des influences extérieures.

Les facteurs agissant sur l'agglutinabilité sont de deux ordres [HIRSHBRÜCK (1905) (31)] :

- 1° Facteurs d'ordre physique;
- 2° Facteurs d'ordre chimique.

Parmi les premiers, je me contenterai de signaler l'influence de la température. D'après EUGLING M. et GRASSBERGER (1908) (32), les races éberthiennes inagglutinables sont aptes à l'agglutination lorsqu'on les cultive sur gélose à 22°.

Parmi les facteurs d'ordre chimique, différents auteurs, entre autres MALVOZ (1897) (33), montrent que diverses substances chimiques, telles que le bichlorure de mercure, la formaline, l'eau oxygénée, l'alcool fort, la vésuvine, la safranine, peuvent déterminer l'agglutination des Bacilles d'EBERTH.

J'ai pu moi-même constater l'action favorisante des vapeurs de formol sur l'agglutination des Bacilles d'EBERTH. Ayant par inadvertance déposé pendant deux à trois heures quarante verres de montre contenant du sang sous une

cloche renfermant des vapeurs de formol, je fus frappé (en pratiquant la séro-réaction) du fait que, à côté d'échantillons agglutinant fortement le Bacille d'EBERTH, le plus grand nombre d'entre eux l'agglutinait faiblement. Pareil fait ne s'étant jamais produit, je crus devoir attribuer cette action au formol. Je me suis décidé à faire des expériences de contrôle : j'ai prélevé immédiatement, soit le jour même, une nouvelle quantité de sang aux malades précédents. J'ai effectué les expériences avec les mêmes cultures microbiennes et avec la même technique.

Je consigne dans le tableau suivant les résultats obtenus :

1 ^{re} EXPÉRIENCE				2 ^e EXPÉRIENCE	
Sang au contact de vapeurs de formol				de contrôle	
Sang n° 1	agglutin.	à . . .	1/200 ^e	1/180 ^e	
— n° 2	—	à . . .	1/180 ^e	1/150 ^e	
— n° 3	—	à . . .	1/40 ^e	négatif	
— n° 4	—	à . . .	1/50 ^e	1/30 ^e	
— n° 5	—	à . . .	1/20 ^e	négatif	
— n° 6	—	à . . .	1/10 ^e	négatif	
— n° 7	—	à . . .	1/30 ^e	négatif	
— n° 8	—	à . . .	1/300 ^e	1/250 ^e	
— n° 9	—	à . . .	1/20 ^e	négatif	
— n° 10	—	à . . .	1/30 ^e	négatif	
Etc...					

Dans l'expérience de contrôle, la diminution du taux fut surtout sensible pour les sangs à faible pouvoir agglutinant, qui n'immobilisaient plus sensiblement le Bacille d'EBERTH.

La présence de vapeurs de formol a donc une influence favorisante sur l'agglutinabilité, et par suite peut fausser les résultats d'une séro-réaction. On doit donc effectuer cette opération dans un laboratoire dont l'atmosphère est la plus pure possible. Les moindres précautions sont

nécessaires. Les lames conservées dans l'alcool, à la suite d'un essuyage imparfait peuvent donner des causes d'erreur : un flambage et un nettoyage rigoureux s'imposent pour les lames et tous les objets devant servir à la séro-réaction (pipettes, verres de montre, lamelles, etc.).

J'ai eu l'occasion de recevoir des sangs destinés aux hémocultures et recueillis dans une solution de citrate de soude, afin d'éviter la coagulation. Connaissant la dilution du sang dans cette solution, il est possible d'utiliser ce mélange pour le séro-diagnostic [SARTORY et LASSEUR (1915) (34)]. En effet, le citrate ne semble pas favoriser ou empêcher sensiblement l'agglutination du Bacille d'EBERTH.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LA SÉRO-RÉACTION

Rapprochant le phénomène de l'agglutination d'une combinaison chimique, il est permis de supposer que, comme dans une combinaison chimique, la vitesse de la séro-réaction devra être fonction de la température. Par suite, l'augmentation de la température dans des limites convenables accélérerait la vitesse de l'agglutination ; en d'autres termes, pour une dilution donnée, on observera des amas beaucoup plus tôt à 37° qu'à 15° ou 20° par exemple. C'est ce qui semble résulter des recherches de SADLER (1905) (35). D'après cet auteur, il serait préférable d'effectuer la séro-réaction de WIDAL à 55° plutôt qu'à 37°. Les résultats, pour une dilution donnée, apparaîtraient déjà très nettement après cinq minutes, alors qu'à 37° la réaction serait encore négative. Ainsi, chez un malade atteint de fièvre typhoïde, l'auteur a constaté, après cinq minutes et à 55°, que le sérum du malade agglutinait jusqu'à 1/200° ; au contraire, à la température de 37°, aucune trace

d'agglutination, et au bout de quatre heures seulement, agglutination au 1/10°.

Par contre les travaux de SADLER n'ont pas été confirmés par VENEMA (1909) (36), qui préfère opérer à 37°, et les tentatives que j'ai effectuées à ce sujet sont assez contradictoires.

En effet, si avec certains sérums on observe une agglutination beaucoup plus rapide à 55° qu'à 37°, avec d'autres sérums agglutinants, la température de 55° ne m'a pas donné de résultats bien différents de ceux obtenus à 37°. De nouvelles recherches demandent à être effectuées dans ce sens avant de pouvoir tirer une conclusion ferme. Si dans la pratique du diagnostic rapide on peut effectuer la séro-réaction à la température du laboratoire, il n'en reste pas moins établi que c'est à 37° que l'on obtiendra les meilleurs résultats.

TAUX D'AGGLUTINATION

Les premiers auteurs ont surtout vu dans la recherche de l'agglutination une propriété qualitative des sérums. A mesure que les observations se sont multipliées, on s'est rendu compte que l'agglutination n'était pas strictement spécifique, et que le sérum d'un malade atteint d'une infection bactérienne pouvait non seulement agglutiner l'agent de la maladie, mais encore des organismes voisins. J'ai noté dans le tableau suivant les observations des différents auteurs à ce sujet :

	LE SÉRUM agglutinait ÉBERTH Para A-B-G	LE SÉRUM provenait de malades atteints de	CONCLUSIONS
ARMENGAUD (1911) (37).	1/50 ^e .	Tuberculose miliaire aiguë.	Taux insuffisant.
GILBERT et LIPPMANN. (1904) (38).	1/500 ^e .	Ictère.	—
ZEVİ VITTORIO..... (1904) (39).	1/1000 ^e max.	Ictère.	—
ALTSCHULER (1904) (41).	Positif.	Septicémie à <i>fæca- lis alcaligenes</i> .	—
DOMBROWSKY (1903) (40).	1/25 ^e .	Tuberculose.	—
JOCHMANN..... (1904) (42).	1/160 ^e Proteus à 1/640 ^e .	Bactériémie à Pro- teus et strepto- coque.	—
IVERSEN (1905) (43).	1/150 ^e à 1/1500 ^e .	Ictère tuberculeux et diphtérie.	—
DENNEMARK..... (1909) (44).	Positif.	Personne saine ayant été en con- tact avec des typhiques.	—
KRENCKER (Ernest).... (1909) (45).	6 fois positive sur 26 cas.	Tuberculose.	—
— (1909) (45).	Positive.	Tuberculose.	—
NEGRE..... (1910) (46).	Positive.	Fièvre de Malte.	—
LOELE (1909) (47).	1/40 ^e sur 10 cas.	Tumeurs et lésions phlegmoneuses.	—

D'après le tableau précédent, on se rend compte qu'il est nécessaire de fixer un taux d'agglutination limite afin d'éviter la confusion de l'agglutination déterminée par une agglutinine de groupe ou une coagglutinine avec l'agglutination provoquée par l'agglutinine spécifique.

Pour cette raison, différents auteurs emploient des dilutions diverses :

WIDAL..... (1896) (48), le taux de. . .	1/10 ^e
MESNIL et ROCHEMONT... (1898)	1/25 ^e
COLE..... (1904) (15), — . . .	1/30 ^e
KREISSSEL..... (1904) (49), — . . .	1/30 ^e pendant 2 h. à 37°

GRUNBAUM			le taux de . . .	1/33°
STERN			— . . .	1/40° à 1/50°
KRAUSS	(1904)	(50),	— . . .	1/40°
RUEDIGER	(1904)	(51),	— . . .	1/30°
DOMBROWSKY	(1903)	(40),	— . . .	1/50° à 1/100°
HALLOCK PARK	(1906)	(52),	— . . .	1/50°
HAYO BRUNS et HEINRICH				
KAYSER	(1903)	(53),	— . . .	1/75°
DOPTER et SACQUÉPÉE ..	(1914)	(152),	— . . .	1/80°
BESSON	(1914)	(59)		
ARMENGAUD	(1911)	(37),	— . . .	1/50° insuff.
JÜRGENS	(1904)	(54),	— . . .	1/50° insuff.

Par suite des divergences de vue de ces différents auteurs, j'ai pratiqué mes séro-réactions avec des dilutions successives de 1/50°, 1/100°, etc. Lorsque le sérum n'agglutinait pas le Bacille d'EBERTH dans ces conditions, j'ai uniquement, à titre de documentation personnelle, recherché l'agglutination aux taux de 1/20° et 1/30°.

Toutefois certains laboratoires, comme j'ai pu le constater pendant la campagne 1914-1915-1916, se sont contentés d'effectuer leurs recherches au taux de 1/10°, taux indiqué par WIDAL et SICARD dans leur mémoire de 1897. D'après le tableau précédent ce taux semble insuffisant.

PHÉNOMÈNE PARADOXAL

Les dilutions successives ont encore une raison d'être. Il existe en effet certains sérums qui offrent cette particularité d'agglutiner lorsqu'ils sont très dilués, et de perdre cette faculté lorsqu'ils sont plus concentrés.

DE BLASI et BERARDINI (1903) (55) ont observé ce phénomène et ils l'ont rapproché du même fait signalé par NEISSER et WEINBERG (1901). On le désigne actuellement sous le nom de PHÉNOMÈNE PARADOXAL.

CERRITO (1904) (56) et DE BLASI (1906) (57) eurent l'occasion de signaler à nouveau des sérums agglutinant d'avantage à des dilutions faibles qu'à des dilutions concentrées.

Théoriquement on peut expliquer ce phénomène en faisant intervenir la notion des *agglutinoïdes*. En effet, d'après WASSERMANN (1903) (58), les agglutinoïdes seraient des agglutinines dépouillées de leur groupement *aptophore*. Or, l'agglutinoïde se fixant plus volontiers que l'agglutinine sur les microbes, deux cas se présenteront : ou bien il ne sera pas constaté d'agglutination, ou encore on verra des solutions plus concentrées de sérum produisant des réactions moins intenses que des solutions plus étendues.

J'ai eu l'occasion d'observer ce phénomène avec des sérums provenant de malades atteints de fièvre typhoïde (sang renfermant uniquement du *Bacillus typhosus*).

En résumé, dans les cas où un sérum n'agglutinerait pas, par exemple au $1/40^{\circ}$ ou $1/50^{\circ}$, avant de considérer ce sérum comme dépourvu de pouvoir agglutinant vis-à-vis du Bacille d'EBERTH, il me paraît indispensable d'essayer si ce sérum n'agglutine pas à une dilution plus élevée, au $1/100^{\circ}$ par exemple.

Il est évident, ainsi que je l'exposerai plus tard, que le taux d'agglutination varie avec le procédé employé. Par le procédé rapide, examen entre lame et lamelle, au bout de 30 minutes, et à la température du laboratoire, le taux d'agglutination sera notablement inférieur au taux obtenu par le procédé lent (observation après 2 heures et à la température de 37°). Je n'ai considéré comme positifs pour le Bacille d'EBERTH que les séro-diagnostics faits à $1/80^{\circ}$ et d'une durée de 30 minutes à la température du laboratoire ; à la condition toutefois que le sérum n'offre pas une coagglutination supérieure pour les Bacilles paratyphiques.

L'obligation où l'on est de déterminer le pouvoir aggluti-

nant d'un sérum restreint considérablement l'emploi de sang desséché ou conservé, soit sur papier, ainsi que l'indique WIDAL (1897) (6), soit sur lames de verre [BESSON (1914) (59)], fibres textiles, grenats, billes de verre, etc.; on se trouve en effet dans l'impossibilité de diluer ces sangs desséchés dans une quantité d'eau correspondant au volume primitif du sang, et de ce fait la mesure du taux d'agglutination devient approximative. A la rigueur, ces procédés au sang desséché peuvent donner quelques indications, mais il est impossible dans ces conditions d'obtenir des résultats précis.

La quantité de sang prélevée doit toujours être assez grande pour que, après coagulation, il se sépare suffisamment de sérum ⁽¹⁾ pour effectuer la réaction à des dilutions différentes.

(1) Lorsqu'il s'agit d'agglutination rapide entre lame et lamelle, à titre d'indication seulement, il n'est pas indispensable de se servir de sérum; le sang directement recueilli est suffisant, les hématies ne gênant en rien la réaction.

CHAPITRE II

TECHNIQUE DE L'AGGLUTINATION

Lorsque les précautions que je viens d'examiner ont été prises, je pratique la séro-réaction par deux procédés différents :

Procédé rapide ;
Procédé lent.

PROCÉDÉ RAPIDE

Ce procédé exige :

Des verres de montre à bords rodés et superposables ou
des godets ;
Des lames et lamelles très propres ;
Des pipettes PASTEUR.

Ces pipettes demandent une préparation spéciale. Les gouttes de culture et de sérum devant avoir la même grosseur, les sections de ces pipettes doivent être rigoureusement semblables.

Pour cela j'emploie un tube de verre de 25 cm environ de longueur sur 6 à 8 mm de diamètre. J'étire une première fois à la flamme et au centre de ce tube, de manière à le ramener au diamètre de 2 mm environ sur 20 cm de lon-

gueur. A nouveau, et au centre de la partie étirée, je chauffe à une flamme peu chaude pour produire un étranglement de 0^{mm}5 à 1 mm de diamètre sur 1 à 2 cm, sans que le verre se brise ou fonde. Après refroidissement, je coupe le tube à l'étranglement final. J'ai ainsi deux pipettes de même débit devant servir l'une au prélèvement de la culture, l'autre à la distribution du sérum.

Je répartis successivement dans une série de verres de montre avec la première pipette 59, 79, 99 gouttes de culture, et avec la deuxième j'ajoute dans chaque verre de montre une goutte de sérum sanguin, en évitant autant que possible de prélever des hématies. J'ai ainsi des dilutions successives de 1/60^e, 1/80^e, 1/100^e. Le mélange est agité immédiatement, et à l'aide d'une anse de platine je dépose sur une lame une quantité suffisante ⁽¹⁾ du liquide pour éviter la dessiccation, l'observation devant durer 20 minutes. Je recouvre d'une lamelle et examine au microscope (obj. 7, ocul. 3). Je répète pour chaque dilution la même technique.

Je recouvre les mélanges sérum et culture par un verre de montre pour éviter toute évaporation.

Deux cas peuvent se présenter :

- 1° L'agglutination est négative;
- 2° L'agglutination est positive.

COURMONT (1902) (27) décrit d'une façon lumineuse le phénomène produit :

« Si la réaction est négative, on est immédiatement frappé par l'extrême mobilité et la grande abondance de Bacilles.

(1) L'insuffisance de liquide risquerait de provoquer une agglutination trop rapide sur les bords de la préparation par suite de la dessiccation, et prêterait à confusion.

On se trouve en présence d'un véritable fourmillement de Bacilles qui traversent le champ du microscope.

« Si la réaction est positive, l'aspect de la préparation est bien différent; on cherche en vain les Bacilles en faisant varier le point, dès qu'on aperçoit les globules rouges. Le champ microscopique paraît désert et ne contient que quelques rares Bacilles, peu ou pas mobiles. L'agglutination a eu lieu : la préparation contient les amas caractéristiques qu'on trouvera bientôt. Ceux-ci sont plus ou moins volumineux, plus ou moins abondants. Tous les intermédiaires existent, depuis les petits amas composés de trois ou quatre Bacilles enchevêtrés et très nombreux alors sous le champ du microscope, et les gros amas formés d'une grande quantité de microbes informés. La déformation des Bacilles, portée au summum dans les gros amas, est très variable : les Bacilles encore distincts, sont souvent granuleux, raccourcis, à contours peu nets. Une séro-réaction se base donc sur ces deux modifications des Bacilles de culture : immobilisation, agglutinations en amas. »

Lorsque l'agglutination est complète au $1/100^{\circ}$, j'essaie par le même procédé des dilutions supérieures, soit $1/250^{\circ}$, $1/500^{\circ}$, $1/1000^{\circ}$, etc. Mais à ce moment, pour éviter de compter un trop grand nombre de gouttes, je dilue le sérum au $1/10^{\circ}$ dans de l'eau physiologique, et de cette façon, une goutte de sérum dilué doit être mélangée à dix fois moins de culture.

Je n'ai admis comme *positives* que des dilutions me donnant des amas très nets et de rares Bacilles mobiles; j'ai considéré comme *negatives* les dilutions supérieures qui ne donnaient plus que quelques rares amas de quatre à cinq Bactéries. Il est évident que si l'on considère comme positif l'un ou l'autre de ce genre d'amas, on arrivera à des taux différents. Il s'agira donc de choisir une fois pour toutes une dilution limite.

PROCÉDÉ LENT

Dans une série de petits tubes (12 cm de long sur 8 mm de diamètre environ) rigoureusement propres et stériles, on distribue successivement :

	SÉRUM	ÉMULSION	DILUTION
1	0,0 au	1 cm ³	(tube témoin)
2	0,1 au 1/3 ^e	1 —	1/30 ^e
3	0,1 au 1/5 ^e	1 —	1/50 ^e
4	0,1 au 1/8 ^e	1 —	1/80 ^e
5	0,1 au 1/10 ^e	1 —	1/100 ^e
6	0,1 au 1/20 ^e	1 —	1/200 ^e
7	0,1 au 1/30 ^e	1 —	1/300 ^e
8	0,1 au 1/40 ^e	1 —	1/400 ^e
9	0,1 au 1/50 ^e	1 —	1/500 ^e
10	0,0 au	1 —	(tube témoin)
11	0,1 au 1/60 ^e	1 —	1/600 ^e
12	0,1 au 1/70 ^e	1 —	1/700 ^e
13	0,1 au 1/80 ^e	1 —	1/800 ^e
14	0,1 au 1/90 ^e	1 —	1/900 ^e
15	0,1 au 1/100 ^e	1 —	1/1000 ^e
16	0,0 au	1 —	(tube témoin)

Ces tubes sont placés à l'étuve à 37°, et examinés au bout d'une heure et ensuite au bout de deux heures définitivement.

Dans le cas d'agglutination, l'émulsion, homogène au début, devient peu à peu grumeleuse, et ces flocons ou grumeaux finissent par se déposer, si bien qu'à la fin on a uniquement un dépôt et un liquide clair, lorsque l'agglutination est complète.

Mais à mesure que la dilution augmente, la taille des grumeaux diminue de plus en plus, et même, après deux heures, ces grumeaux, de masse trop faible, restent en suspension lorsqu'on arrive vers la limite d'agglutination. Il

est même nécessaire, pour se rendre compte macroscopiquement de cette limite d'agglutination, d'incliner fortement le tube et d'examiner le mélange par transparence à la hauteur de l'œil. Si la réaction est *positive*, ces petites masses se détachent alors nettement.

L'examen macroscopique donne une indication de premier ordre, mais il est indispensable de compléter cette observation par l'examen microscopique.

AGGLUTINATION PAR LES BACILLES MORTS

J'ai montré que dans le procédé rapide il est nécessaire d'utiliser des cultures jeunes repiquées fréquemment.

Dans le but de faciliter la pratique de la séro-réaction aux médecins et pharmaciens ne disposant pas d'un laboratoire de bactériologie complet, on a songé à préparer des émulsions microbiennes susceptibles d'être utilisées même après plusieurs mois de préparation.

Différents procédés ont été préconisés, mais ils peuvent tous se ramener à deux types :

- 1° Cultures tuées par des moyens chimiques ;
- 2° Cultures tuées par des moyens physiques.

Le TYPHUS-DIAGNOSTICUM de FICKER (1903) (60), autour duquel on a fait tant de bruit [EHRSAM (1904) (61), MEYER (1904) (62), RADZIKOWSKY (1904) (63), ALEXANDER SKUTEZKY (1904) (64), VAN LOGHEM (1905) (65)] et dont l'auteur s'est efforcé de cacher la composition, n'a pas toujours donné des résultats satisfaisants ; ainsi VERWOORT (1907), qui l'employait concurremment avec le procédé ordinaire, a vu que, dans un certain nombre de cas, le typhus-diagnosticum ne permettait pas l'agglutination, alors que le procédé ordinaire donnait un séro-diagnostic positif. Ce fait n'a rien de

surprenant, car il est possible que la mort de la cellule modifie l'agglutinabilité des microbes.

Cependant, d'après TRIBONDEAU (1908) (66) et DREYER (1909) (67), les cultures tuées par le formol ou le toluol [AASSER (1905) (68)] s'agglutineraient aussi facilement que les cultures vivantes. Toutefois le formol est considéré par la plupart des auteurs comme le meilleur parmi les agents chimiques.

Dans le même but on a utilisé les agents physiques. En premier lieu on a employé la chaleur : WIDAL et SICARD (1897) (6) tuent les Bacilles par la chaleur (15 minutes à 56°); GINO DE ROSSI (1906) (69) propose le chauffage pendant une heure à 58-60°. Il obtiendrait ainsi une émulsion plus agglutinable que l'émulsion non chauffée.

STASSANO et LEMATTE (1914) (70) utilisent les rayons ultra-violets. Ils estiment que les Bactéries ainsi traitées conservent leur agglutinabilité initiale, et sont agglutinées au même taux que les Bacilles vivants, mais avec un léger retard, et ce retard, d'ailleurs, serait plus faible pour les Bacilles soumis aux radiations ultra-violettes que pour les Bacilles tués par la chaleur ou le formol.

RIGHI (1910) (71) signale par contre que les rayons ultra-violets retardent l'agglutination, mais que les Bacilles tués par la chaleur s'agglutinent aussi vite que les Bacilles tués par un moyen chimique quelconque.

J'estime que ces différentes manières d'effectuer la séro-réaction à l'aide d'émulsions de Bacilles tués peuvent rendre de grands services dans une installation bactériologique sommaire, à condition toutefois de considérer les résultats obtenus comme approximatifs et nécessitant confirmation par le procédé ordinaire.

APPARITION DES AGGLUTININES

En dehors d'une technique parfaite, la séro-réaction doit se pratiquer en temps voulu, car le pouvoir agglutinant des sérums varie avec les individus et l'époque de la maladie à laquelle le sang est prélevé.

Le grand mérite de WIDAL et SICARD (1896) (72) est d'avoir montré que non seulement la présence d'agglutinines dans le sang correspond à une réaction de défense de l'individu, et non à une réaction d'immunité, mais encore que les agglutinines n'apparaissent pas toujours dès le début de la maladie. Ces auteurs ont observé en 1897 des séro-réactions positives :

Une fois le 5^e jour;
Une fois le 8^e jour;
Une fois le 10^e jour;
Une fois le 22^e jour.

D'autres auteurs ont noté des résultats positifs le 4^e, le 3^e et même le 2^e jour de la maladie; PICK, le 16^e jour.

Le pouvoir agglutinant, d'abord nul, augmente régulièrement pour atteindre un maximum, décroître ensuite et devenir nul.

COURMONT (1897) (73) sur 167 cas étudiés donne les résultats suivants :

Au 1/10^e la réaction a été positive :

Pour 13 cas dans les 6 premiers jours;
— 40 — du 7^e au 8^e jour;
— 73 — du 8^e au 15^e jour;
— 41 — du 15^e à la fin de la maladie.

Dans 7 cas seulement la réaction, qui était négative au début, fut positive par la suite :

1 cas négatif le	5 ^e jour fut positif le	8 ^e jour;
2 — — le	6 ^e — — le	10 ^e —
1 — — le	8 ^e — — le	15 ^e —
1 — — le	10 ^e — — le	13 ^e —
1 — — le	13 ^e — — le	15 ^e —

GAETHGENS-WALTER (1906) (74) étudiant 842 échantillons trouve une séro-réaction positive dans :

75 % des cas durant la	1 ^{re} semaine;
90 % — — la	2 ^e —
95 % — — la	3 ^e —

Il n'observait plus que 60 % de cas positifs après 9 à 10 semaines.

Le taux d'agglutination augmente ainsi régulièrement pour atteindre un taux maximum.

JÜRGENS (1903) (75) a vu ce pouvoir agglutinant s'élever jusqu'à 1/15000^e tandis que le sérum de malades n'offrant pas de symptômes cliniques nets de dothiéntérie ne dépassait pas un pouvoir agglutinant de 1/40^e à 1/50^e.

ZEVI-VITTORIO (1904) (76) cite 1/1000^e.

NICOLLE et CATHOIRE (1906) (77) donnent 1/2000^e maximum et 1/20^e minimum.

GAETHGENS-WALTER agglutine au début à 1/100^e et quarante jours après à 1/250^e.

SCHTULERN (1907) (78) à 1/500^e.

EBELING (1914) (79) à 1/200^e.

Le pouvoir agglutinant décroît ensuite régulièrement et subsiste même très longtemps après la fin de l'infection, et WEINBERG (1897) (80), sur 108 anciens typhiques, trouve encore sur 34 d'entre eux des réactions positives au 1/10^e entre trois mois et trente ans. Toutefois, l'auteur se

demande s'il doit faire état d'une pareille séro-réaction, étant donné que le sérum d'un individu sain peut donner des résultats du même ordre.

En outre, il doit être entendu qu'il est toujours difficile, sinon impossible, de préciser la date exacte de l'apparition de la fièvre typhoïde, ce début restant presque toujours douteux.

Ces variations dans le pouvoir agglutinant aux diverses périodes de la maladie ont conduit certains auteurs à représenter par une courbe les différents taux maxima d'agglutination, et à tirer de cette courbe des déductions pour le pronostic de l'infection [COURMONT (1897) (81)]. D'autres [KREISSEL (1904) (82)] n'admettent pas ce procédé, sauf en ce qui concerne les cas bénins.

DE LA COAGGLUTINATION

Malgré toutes les causes d'erreur que je viens de décrire et la difficulté relative de technique de la séro-réaction, cette opération demeurerait malgré tout un procédé de choix dans la recherche des affections typhoïdes, si un nouvel élément ne venait, la plupart du temps, jeter un trouble dans l'expression des résultats obtenus : je veux parler des coagglutinations.

En effet, le sérum d'un animal immunisé contre un organisme particulier, par exemple vis-à-vis du Bacille d'EBERTH, peut agglutiner non seulement l'agent qui a servi à l'immunisation, mais encore des germes voisins : Colibacilles, Bacilles paratyphiques, etc.

L'agglutination du Bacille d'EBERTH par un sérum typhique portera le nom d'*agglutination spécifique*, et l'agglutination par ce même sérum de germes voisins portera le nom d'*agglutination secondaire*, ou de *coagglutination* ou d'*agglutination de groupe*.

Jusqu'à présent les fièvres paratyphoïdes étaient plutôt

des exceptions. Il était tout indiqué de rechercher si l'agent causal de la maladie n'était pas le *Bacillus typhosus*. Mais aujourd'hui les infections à germes paratyphiques sont devenues fréquentes; aussi doit-on rechercher non seulement le Bacille typhique, mais aussi les Bacilles paratyphiques.

Il résulte de ces faits qu'*a priori* la séro-réaction ne saurait à elle seule permettre le diagnostic d'une infection, dès lors qu'un sérum typhique peut agglutiner des espèces voisines.

CASTELLANI (1902) (83) a recherché une méthode qui permette de diagnostiquer une infection mixte seulement à l'aide de la séro-réaction.

Je me bornerai à résumer les conclusions auxquelles l'auteur est arrivé :

1° Le sérum d'un animal immunisé contre un organisme déterminé, perd, lorsqu'on y ajoute ce microorganisme, son pouvoir agglutinant, aussi bien pour ce microorganisme que pour les autres sur lesquels il agissait. Si on ajoute par contre ces derniers, il perd son pouvoir agglutinant pour eux, mais pas dans une mesure appréciable pour le premier microorganisme (agglutinine spécifique).

Enfin, si on ajoute des microorganismes sur lesquels le sérum n'avait aucune action, le pouvoir agglutinant reste intact;

2° Le sérum d'un animal immunisé contre deux microbes *A* et *B*, perdra, si on y ajoute *A*, son pouvoir agglutinant pour *A*, mais pas d'une façon marquée pour *B*, de même si on ajoute *B*, il perdra son pouvoir agglutinant pour *B* et non pour *A*;

3° Enfin, si on ajoute les deux Bactéries, il perdra son pouvoir agglutinant pour *A* et *B*.

Ces faits peuvent être utilisés pour le diagnostic d'une infection mixte.

Prenons l'exemple habituel :

Nous trouvons que le sérum sanguin du typhique agglutine en plus du Bacille d'EBERTH le Coli, par exemple. S'agit-il dans ce cas d'une affection mixte ?

Pour répondre à cette question, on n'a qu'à ajouter au sérum du Bacille typhique. Si le sérum perd son pouvoir agglutinant pour celui-ci seulement et pas pour le Coli (ou du moins d'une façon appréciable), il s'agira sûrement d'une infection mixte à typhique et Coli.

Par contre, si le sérum perd son pouvoir agglutinant pour le Bacille d'EBERTH et le Bacille coli, on doit conclure que l'agglutinine trouvée pour le Bacille coli était simplement une coagglutination due à l'agglutinine spécifique et que, par suite, il s'agissait d'une infection pure éberthienne.

Il résulte de ces faits qu'un même sérum peut agglutiner des microbes différents, et que ce phénomène de coagglutination ne dérive pas généralement d'une infection mixte.

Nombre d'auteurs ont signalé de semblables observations. Je citerai entre autres :

BIRT (1907) (84) : un sérum peut agglutiner avec plus d'intensité un Bacille paratyphique que le Bacille d'EBERTH.

JÜRGENS (1904) (85) : un sérum typhique agglutinait le Bacille paratyphique *B* à 1/800^e, sans qu'il ait jamais présenté aucune agglutination pour le Bacille d'EBERTH.

ZEVI-VITTORIO (1904) (76) : un sérum typhique agglutinait le paratyphique *A*.

KONRICH (1909) (86) : au début de la maladie, un sérum paratyphique *B* agglutinait plus fortement le Bacille paratyphique *A* que le Bacille paratyphique *B*.

NETTER et RIBADEAU-DUMAS (1905) (87) : les sérums typhiques coagglutinent fréquemment les Bacilles paratyphiques.

NICOLLE et CATHOIRE (1906) (77) : un sérum coagglutine le Bacille paratyphique *B* et l'entéridis de GARTNER.

GAETHGENS-WALTER (1906) (88) : un sérum typhique agglutine d'abord le Bacille d'EBERTH au 1/100° et pas le Bacille paratyphique, puis, quarante jours après, il agglutine le Bacille d'EBERTH à 1/250° et le Bacille paratyphique au 1/100°.

NICOLLE et CATHOIRE (1906) (77) : un sérum paratyphique coagglutine le Bacille d'EBERTH et les paratyphiques.

NÈGRE (1910) (46) : un sérum typhique coagglutine le *Micrococcus melitensis*.

Au point de vue statistique, les auteurs suivants signalent :

MANTEUFEL (1905) (89) : le Bacille typhique coagglutine les Bacilles paratyphiques dans 68 % des cas.

GRÜNBERG et ROLLY (1905) (90) : même fait que le précédent dans 70 % des cas.

ABRAMI (1907) (91) : les sérums typhiques ou expérimentaux agglutinent dans 30 % des cas les paratyphiques.

Pour certains auteurs la coagglutination est en général peu élevée et certainement inférieure à l'agglutination spécifique [ABRAMI (1907) (91), NICOLLE et CATHOIRE (1906) (77)]. De plus, la courbe des agglutinines secondaires serait différente de celle des agglutinines spécifiques⁽¹⁾.

Pour tous ces auteurs la séro-réaction, du moins basée sur la saturation des agglutinines, conserverait toute sa valeur.

Tel n'est pas l'avis de RIEUX et SACQUÉPÉE (1905) (92). Si, dans l'étude expérimentale, la saturation des agglutinines donne des résultats précis dans les rapports typhiques et paratyphiques, par contre il convient de faire des réserves sur la valeur du procédé de CASTELLANI dans les recherches cliniques. Ainsi, dans un cas observé par RIEUX et

(1) NICOLLE et CATHOIRE auraient vu apparaître ou constaté l'élévation du taux d'agglutination des agglutinines secondaires durant la convalescence, alors que décroissait l'agglutinine primaire.

Pour NETTER et RIBADEAU-DUMAS (1905) (87), au début de la maladie on n'observerait que l'agglutination spécifique, la coagglutination n'apparaissant que par la suite.

SACQUÉPÉE, alors que d'après les renseignements fournis par la saturation des agglutinines, on aurait dû conclure à l'affection éberthienne pure, l'étude bactériologique plus complète montra qu'il s'agissait d'une infection exclusivement produite par le Bacille paratyphique A.

HALLOCK PARK (1906) (93) confirme ces faits. Pour cet auteur, les Bactéries ajoutées à un sérum spécifique lui enlèvent non seulement les agglutinines correspondantes, mais encore les agglutinines de groupe.

De plus, on a souvent une opinion exagérée de la séro-réaction dans le diagnostic de la fièvre typhoïde ; certaines Bactéries en effet, en provoquant la formation d'une grande quantité d'agglutinines actives contre ce germe, en font¹ développer qui sont actives contre d'autres espèces même très éloignées. Le sérum d'un animal immunisé contre le Staphylocoque, par exemple, agglutine le Bacille typhique au 1/60^e, alors qu'il n'agglutinait qu'au 1/10^e avant l'inoculation.

J'admettrai, avec SACQUÉPÉE et CHEVREL (1905) (94), qu'en ce qui concerne les affections éberthiennes pures, la séro-réaction conserve toute sa valeur, à la condition de ne considérer comme valables que les agglutinations à un taux élevé et chez les individus non vaccinés ; en ce qui concerne les Bacilles paratyphiques la réaction n'est plus suffisante.

La difficulté de donner des résultats précis se complique encore, lorsqu'on se trouve en présence d'infections surajoutées.

INFECTIONS SURAJOUTÉES

Certains auteurs prétendent que les infections streptococciques ou staphylococciques survenues au cours d'une fièvre typhoïde peuvent faire disparaître la réaction agglutinante

du sérum. D'autres nient la disparition de l'agglutinine primaire.

Il résulte des expériences de KENTZLER et BENEZUR (1908) (95), que les agglutinines formées au cours d'une infection ne se laissent pas influencer par une infection surajoutée. Ce fait avait d'ailleurs été constaté par CASTELLANI.

Mais il y a plus : non seulement les agglutinines primaires ne diminuent pas, mais encore elles peuvent augmenter sous l'influence d'une nouvelle infection (Bacille typhique + Stréptocoque, Bacille typhique + Staphylocoque).

En résumé, l'agglutination conserve toute sa valeur pour mettre en évidence une affection éberthienne pure, à condition de pratiquer le taux maximum d'agglutination et d'opérer en temps voulu ; mais en présence d'affections paratyphoïdes, de coagglutinations et d'affections surajoutées, son insuffisance devient flagrante.

On est donc conduit fatalement à isoler le germe lui-même dans les diverses humeurs de l'organisme et en particulier dans le sang.

Les différents procédés utilisés dans ce but peuvent se ramener à trois types :

- 1° La BILICULTURE ;
- 2° La COPROCULTURE ;
- 3° L'HÉMOCULTURE.

Je rappellerai succinctement les méthodes relatives à la biliculture et à la coproculture, pour insister particulièrement sur l'hémoculture, procédé que j'ai eu l'occasion d'appliquer plus spécialement.

CHAPITRE III

BILICULTURE — COPROCULTURE — HÉMOCULTURE

BILICULTURE (CARNOT ET WEIL-HALLÉ) (1915) (96)

Cette méthode consiste à isoler le Bacille typhique dans la bile prélevée soit dans l'estomac, soit dans le duodénum.

Par la technique stomacale, on fait ingérer au malade à jeun 50 à 60 cm³ d'huile d'olive, et on pratique un simple tubage gastrique après trois heures environ. On retire alors une notable quantité de bile et de suc gastrique, mélangés à du mucus et à l'huile ingérée. Le liquide biliaire surnageant est décanté à la pipette etensemencé sur bile de bœuf. La suite de l'analyse se poursuit alors comme je l'exposerai pour l'hémoculture.

La seconde technique, plus élégante que la précédente, consiste à retirer directement la bile suspecte du duodénum par une sonde spéciale, et à pratiquer comme précédemment l'ensemencement sur bile de bœuf.

Tels sont brièvement résumés les deux procédés employés par CARNOT et WEIL-HALLÉ.

Ces deux auteurs ont eu un précurseur en WEBER (1908) (97), qui faisait absorber à ses malades 200 cm³ d'huile et recueillait pareillement le liquide stomacal à l'aide d'un siphon.

KIRALYFI (1912) (98) attribuait une importance particulière à la méthode de WEBER dans le diagnostic de la fièvre typhoïde. C'est ainsi que sur trois cas examinés par cet auteur, l'hémoculture, la coproculture et la séro-réaction donnèrent des résultats dans deux cas, alors que l'examen de la bile donna des cultures pures de Bacille typhique dans les trois cas.

Ces divers procédés seraient avantageux s'ils ne donnaient une flore multiple, cause de difficultés ultérieures dans la différenciation des espèces.

COPROCULTURE

Cette méthode consiste à isoler les germes infectieux des selles. Elle est basée sur l'emploi de milieux spéciaux ; ce sont la gélose vert malachite, la gélose lactosée phéniquée, la bile et le milieu de ENDO.

A côté de la coproculture proprement dite, je rappellerai le procédé original de BOTELHO *junior* dont je ne donnerai que le principe :

Les selles à examiner sont diluées et teintées par une couleur rouge ; une culture de Bacilles typhiques est teintée par une couleur bleue.

Une trace de dilution des selles colorée en rouge et une trace de culture colorée en bleu sont portées dans une goutte de sérum antityphique dilué au degré voulu.

Lorsqu'à l'examen microscopique les Bacilles colorés en rouge et bleu sont agglutinés, il s'agit de fièvre typhoïde.

L'originalité seule de ce procédé mérite qu'on le signale, car les renseignements fournis par cette technique sont entachés de causes d'erreur.

En effet, on ne saurait caractériser une Bactérie unique-

ment par l'agglutination. D'autre part, si on envisage le procédé de BOTELHO simplement à titre indicateur, deux objections peuvent lui être faites :

1° Il implique la présence d'une grande quantité de Bacilles typhiques dans les selles ;

2° Il nécessite la présence d'un Bacille agglutinable.

HÉMOCULTURE

Durant la guerre de 1914-1916, j'ai eu l'occasion, au laboratoire régional de bactériologie de Nancy, d'effectuer des hémocultures, non seulement pour l'hôpital militaire Sédillot, mais encore pour des formations sanitaires situées à une distance assez considérable du laboratoire. De ce fait, le sang à examiner devait être recueilli dans un liquide anticoagulant. J'ai rapidement abandonné le citrate de soude pour lui substituer la bile de bœuf stérile.

Dès 1906, CONRADI (99) préconisait déjà l'emploi de bile de bœuf peptonée glycérinée dans la recherche des Bacilles typhiques dans le sang, alors que KAYSER (1906) (100) se contentait d'utiliser la bile en nature.

Depuis, de nombreux savants ont employé les milieux à base de bile. Je citerai :

TZEIDLER (1907) (101), SCHTULERN (1907) (102), KESSLER (1907) (103), COURMONT (1901) (104), BETTENCOURT et REGALLA GARCIA (1908) (105), VINCENT (1914) (135), DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et LECLERCQ (1915) (106), etc.

La bile est employée non seulement comme anticoagulant, mais encore pour favoriser le développement des Bacilles [GILDEMEISTER (1907) (107)].

Étant donnée cette action favorisante, différents auteurs ont cherché parmi les constituants de la bile quel était ce principe favorable.

La bile renfermant deux sels principaux, le taurocholate et le glycocholate de soude, MEYERSTEIN (1906) (108), par l'emploi de ces deux sels, a pu obtenir des cultures luxuriantes à une époque où le séro-diagnostic était négatif.

DÜNSCHMANN (1909) (109) a recherché lequel de ces deux sels était le plus capable de favoriser le développement du Bacille typhique. Après une série d'expériences, il a conclu à l'action favorisante du taurocholate de soude, alors que le glycocholate au contraire est défavorable. S.-L. CUMMINS et C.-C. CUMMING (1910) (110) confirment ces conclusions et proposent les milieux à base de taurocholate de soude. Toutefois, le prix élevé et l'extraction difficile de ce sel en font restreindre l'emploi.

J'ai donc utilisé la bile et non les sels biliaries.

TECHNIQUE — PRÉPARATION DE LA BILE

Les vésicules biliaries sont prélevées aussitôt après l'abattage des animaux et ouvertes immédiatement, en rejetant toutes celles dont le liquide est trouble ou de viscosité exagérée, ainsi que les dernières portions de la bile, qui sont toujours souillées.

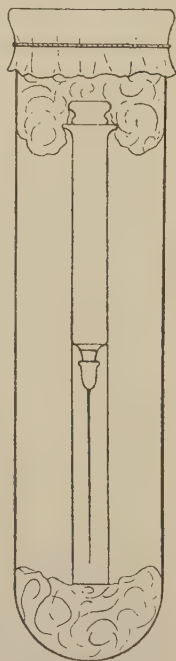
Cette bile est ensuite portée à 100° pour coaguler la mucine, puis filtrée et distribuée à raison de 10 à 20 cm³ dans des tubes stériles, et ensuite stérilisée à 100°.

PRÉLÈVEMENT DU SANG

D'après DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et J. LECLERCQ (1915) (106), « on prélève le sang à l'aide d'une seringue de 5 à 10 cm³. Le modèle genre *Lüer* est le meilleur. Les aiguilles sont en acier et d'une longueur de 3 à 5 cm; leur calibre doit être assez grand. Si les aiguilles sont trop fines, le sang mousse en arrivant dans la seringue et des coagu-

lums ne tardent pas à se produire, arrêtant l'écoulement du sang. Il faut s'assurer que les aiguilles sont perméables et que les seringues tiennent bien le vide. Il faut éliminer les seringues de mauvaise fabrication qui sont mal rodées et qui n'aspirent presque pas.

« Il est indispensable d'employer des seringues et des aiguilles autoclavées. L'ébullition est absolument insuffisante; afin de pouvoir conserver les seringues stériles et les transporter facilement, on les place dans un cylindre en verre. On dispose au fond de ce cylindre un tampon de coton hydrophile imbibé d'eau légèrement boratée (pour éviter la rouille des aiguilles). L'aiguille est montée sur la seringue et ne repose pas directement sur le coton; elle pénètre dans un tube en verre plus long qu'elle et qui empêche le contact. Ce tube est fabriqué simplement avec un fragment de tube à pipette de longueur voulue et dont on rode les extrémités à la flamme. La seringue étant pleine dans le manchon, aiguille en bas, on ferme au coton cardé, on capuchonne avec papier et ficelle. Dans le cas où l'on ne pourrait pas se procurer un cylindre en verre, il suffit de bien envelopper la seringue dans du coton cardé, puis dans du papier et de la ficeler soigneusement. L'aiguille est placée à part dans un tube à essai où elle est disposée comme dans le cylindre en verre. Quel que soit le procédé adopté, on stérilise à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes.



« *Prise de sang.* — Pour aller faire la prise de sang, il est nécessaire d'emporter, outre les seringues et les réci-

pients contenant les milieux de culture, une lampe à alcool, une pince à disséquer, une paire de ciseaux, un tube de caoutchouc et une pince de PÉAN. Arrivé près du malade, on place ces instruments bien à portée de la main.

« Le sang est pris dans la veine au niveau du pli du coude.

« Le malade est rapproché du bord du lit sur lequel son bras repose commodément. Nous pensons qu'il est préférable, dans tous les cas, de faire coucher le malade pour faire une prise de sang. On procède de la façon suivante :

« a) Le membre supérieur étant mis à nu, on désinfecte à la teinture d'iode toute la région du pli du coude ⁽¹⁾. La couche de teinture d'iode ne doit pas être trop épaisse, car sa couleur foncée gênerait pour repérer les veines.

« b) La compression peut être faite très simplement par un aide qui, avec les mains, serre le bras du malade. On peut utiliser aussi dans ce but un petit tuyau de caoutchouc que l'on maintient à l'aide d'une pince de PÉAN. Ces procédés sont préférables à l'emploi d'une bande.

« c) S'assurer que la région du pli du coude est bien tendue. Souvent, en effet, les malades plient un peu l'avant-bras sur le bras, et il devient plus difficile de saisir les veines.

« d) Il n'est pas de règle anatomique fixe pour le choix de la veine; on prend celle qui est la plus turgescence. Ce ne sont pas les veines les plus visibles qui sont les meilleures; il faut se méfier des petites veines qui, très bleutées, paraissent faciles à saisir, mais qui sont en réalité très mobiles et fuient sous l'aiguille.

(1) Afin de pouvoir obtenir des renseignements précis par l'hémoculture, il est absolument indispensable de pratiquer une antisepsie rigoureuse de la peau :

1^o Lavage à l'alcool-éther; 2^o badigeonnage à la teinture d'iode; 3^o eschare assez profonde au thermocautère.

« Le point de ponction ayant été repéré, pousser l'aiguille d'un coup sec, la pointe dirigée vers la racine du membre et presque parallèlement à la veine. La peau traversée, on sent facilement le moment où la veine est perforée et où l'aiguille est libre dans le vaisseau. Du reste, on est averti, en voyant le sang arriver dans la seringue. Si le sang ne s'écoule pas franchement, il faut en conclure que la veine n'est pas touchée ou que l'aiguille est bouchée.

« *e*) Aspirer très lentement en tournant de temps en temps le piston de façon à avoir une masse de sang bien homogène.

« *f*) La prise terminée et l'aiguille sortie de la veine, il faut éviter de laisser tomber du sang sur le plancher ou sur le lit du malade. En inclinant un peu la seringue, on évite cet inconvénient.

« Lorsqu'on verse le contenu de la seringue dans le tube renfermant le milieu, il faut tenir la seringue bien perpendiculairement à la surface du milieu et faire en sorte que l'aiguille soit bien au milieu de l'ouverture du tube de façon à ne pas souiller de sang ses parois. Avec un peu d'habitude, on doit arriver à ponctionner la veine et à verser le sang dans le milieu sans en répandre une goutte sur le sol⁽¹⁾.

« *g*) Passer rapidement dans la flamme l'ouverture du récipient, remettre le bouchon de coton et le flamber. Inscrive soigneusement sur l'étiquette....., etc.

« *h*) Il suffit ordinairement de placer sur le point de ponction, après la prise, un tampon de coton et de recommander au malade de plier l'avant-bras sur le bras. S'il arrive par hasard de causer un petit hématome, on met à ce niveau une compresse trempée dans l'eau très chaude.

« *i*) Avant de quitter la salle, ou dès que cela sera

(1) Avant de verser le sang dans le tube, retirer l'aiguille à l'aide d'une pince flambée. L'aiguille, qui s'est plus ou moins souillée au contact de la peau, est une cause de contamination du milieu de culture.

possible, rincer soigneusement la seringue et les aiguilles à l'eau. Si on laisse trop longtemps du sang coagulé, le nettoyage devient très difficile.

« j) Rentré au laboratoire, faire bouillir les seringues, les aiguilles et les manchons pour les préparer ensuite comme il a été dit au début. »

Je laisse séjourner ce mélange bile et sang, pendant vingt-quatre heures, à l'étuve à 37°. J'aspire ensuite avec une pipette à boule la presque totalité du liquide et l'ensemence dans un ballon renfermant 150 cm³ de bouillon glycérimé ou glucosé. La culture, mise à l'étuve, est agitée toutes les vingt-quatre heures.

Au bout de vingt-quatre, quarante-huit, soixante-douze heures, j'examine cette culture au microscope. Cet examen donne une première indication sur la présence de germes ou de spores, leurs formes, leur motilité et leur faculté de prendre et de ne pas prendre le Gram.

Toutefois on ne saurait baser aucun diagnostic sur cet examen sommaire. Si la presque totalité des germes prennent le Gram, on peut avoir affaire à une culture renfermant quelques rares Bactéries ne prenant pas le Gram ou qui échappent à l'observation microscopique.

La culture est doncensemencée sur gélose lactosée tournesolée et coulée sur boîtes de PETRI.

Je ne saurais mieux faire que de renvoyer aux deux tableaux suivants qui donneront les diverses manipulations à effectuer pour la différenciation des Bacilles typhique, paratyphique et du Colibacille.

Bacilles plus ou moins mobiles, non sporulés, ne prenant pas le Gram, ne liquéfiant pas la gélatine.	Colonies rouges sur gélose lactosée tournesolée.		Groupe Coli.	Sur pomme de terre	Culture épaisse incolore.	Coli.
				Peptone	Indol.	
				Lait tournesolé.	Rougit et coagule.	
				Milieu { lactose ou glucose.	Dégagement de gaz.	
				Milieu au plomb.	Ne noircit pas.	
				Agglutination avec anti-EBERTH, Para.	Négative.	
				Pomme de terre.	Glacis incolore.	
				Lait tournesolé.	Rougit nettement, ne coagule pas.	
				Milieu au plomb.	Ne noircit pas ou tardivement.	
				Agglutination seulement avec sérum anti-Para A	Positive.	
	Colonies bleues sur gélose lactosée tournesolée.	Réduction du rouge neutre.	Groupe Para.	Pomme de terre.	Colonies épaisses, opaques, disque blanc type Coli.	Para A.
				Lait tournesolé.	Rougit puis retour au bleu, acidité légère premières heures, puis alcalinité franche 5 à 7 jours.	
				Milieu au plomb.	Noircit en 3 à 6 jours.	
				Agglutination sérum anti-Para B	Positive sauf exception.	
				Pomme de terre.	Glacis incolore.	
				Indol.	Négatif.	
				Lait tournesolé.	Rougit légèrement, ne coagule pas.	
				Milieu { lactose ou glucose.	Pas de gaz.	
				Milieu au plomb.	Noircit.	
				Agglutination avec sérum anti-EBERTH. .	Positive.	
		Pas de réduction du rouge neutre.	Groupe EBERTH.			EBERTH.

En cas de recherches plus complètes, je donne, ci-après, les principales propriétés des différents Bacilles typhiques, paratyphiques et Colibacilles.

**BACILLES OU COCCOBACILLES NE PRENANT PAS LE GRAM, NON SPORULÉS, NE LIQUÉFIAINT PAS LA GÉLATINE,
TROUBLANT UNIFORMEMENT LE BOUILLON AVEC PRODUCTION D'ONDES**

— 42 —

	EBERTH	PARA 4	PARA B	COLIBACILLE
Motilité.	Très mobile.	Très mobile.	Très mobile.	Mobile dans les premières heures, puis peu mobile et parfois immobile.
Cils.	Cils nombreux, 8 à 18, longs, flexueux.	Cils assez nombreux, 2 à 6, flexueux.	Cils assez nombreux, 2 à 6, flexueux.	3 à 4 cils courts.
Culture sur gélatine.	Culture « montagne glace » transparente.	Colonies transparentes peu épaisses sans vallonnements.	Colonies épaisses opaques, disque blanchâtre type Coli.	Colonies épaisses opaques.
Culture sur bouillon.	Trouble avec ondes, généralement sans voile (au moins durant les premières heures).	Trouble avec ondes, généralement sans voile (au moins durant les premières heures).	Trouble avec ondes, voile très fréquent. Souvent odeur técaloïde.	Trouble avec onde, voile.
Culture sur pomme de terre.	Glacis incolore.	Glacis incolore.	Culture épaisse, souvent colorée en brunâtre.	Culture épaisse, brunâtre.
Peptone (indol).	Indol = o.	Indol = o.	Indol = o.	Production d'indol.
Lait à 32°.	Ne coagule pas.	Ne coagule pas.	Éclaircissement tardif vers le deuxième septénaire.	Coagule.
Lait tournesolé ou petit-lait tourne-olé.	Ne coagule pas, rougit légèrement.	Ne coagule pas, rougit nettement.	Rougit puis retour au bien, acidité légère dans les premières heures, puis alcalinité franche du 3 ^e au 7 ^e jour.	Rougit et coagule.
Milieu de Expo.	Colonies incolores.	Colonies incolores.	Colonies incolores.	Colonies rouges.
Artichaut.	Verdissement nul. Glacis.	Verdissement tardif ou nul. Glacis.	Verdissement en 2 ou 3 jours. Culture épaisse.	Verdissement en 2 ou 3 jours. Culture épaisse.
Bouillon rouge neutre.	Pas de réduction.	Réduction.	Réduction.	Réduction.
Milieu lactosé.	Dégagement de gaz = o.	Dégagement de gaz = o.	Dégagement de gaz = o.	Dégagement de gaz = +.
Milieu glucosé.	Dégagement de gaz = o.	Dégagement de gaz = +.	Dégagement de gaz = +.	Dégagement de gaz = +.
Milieu au plomb et tartrate de fer.	Noircit.	Noircit tardivement ou pas du tout.	Noircit en 3 ou 6 jours.	Ne noircit pas (quelques exceptions).
Agglutination. { Sérum typhique. — Para A. — Para B.	Agglutination { positive = +. — négative = o. — négative = o.	Agglutination { négative = o. — positive = +. — négative = o.	Agglutination { négative = o. — négative = o. — positive = +.	Agglutination { négative = o. — négative = o. — négative = o.

Tableau des différences de coagulation du lait à 37° et 100°.

Groupe Para et Eberth.

Lait	Coagulé à 32°	Coli.
		Para B et G.
	non coagulé à 32°	mais coagule à 100°. (1 à 3 jours).
(1) Lait glucosé	ne coagule pas à 100°.	Eberth (1).
		Para A (2).
	non coagulé à 100°.	Bac. <i>fæcalis alcaligenes</i> .
	coagulé à 100° . . .	Eberth et Para.

ÉTUDE DES PRINCIPAUX MILIEUX

1° BOUILLON DE VIANDE

500 gr de viande hachée et dégraissée sont mis à digérer dans 900 cm³ d'eau salée à 5 ‰. Laisser en contact douze à vingt-quatre heures à la température de la cave, décantier, exprimer la viande, réunir les deux liquides, chauffer pour coaguler les albuminoïdes, ajouter :

Peptone Defresne	2 ‰
Glycérine	2 ‰

Neutraliser par la solution de NaOH/N en présence de phénolphtaléine.

Faire bouillir et vérifier à nouveau si la neutralisation est complète.

Ajouter glucose	1 ‰
---------------------------	-----

Dissoudre le glucose dans une petite quantité d'eau et neutraliser cette solution s'il est nécessaire, avant d'ajouter au bouillon primitif. Compléter par de l'eau à 1.000 cm³, filtrer et répartir dans des flacons de 250 cm³, à la dose de 100 ou 200 cm³. Stériliser à 120° pendant vingt minutes.

2° SOLUTION DE PEPTONE

Faire dissoudre à raison de 2 % de la peptone Defresne ⁽¹⁾ dans de l'eau distillée, neutraliser en présence de phénolphtaléine, et vérifier la neutralisation après ébullition, filtrer et répartir en tubes.

3° GÉLATINE

A du bouillon de viande peptoné sans glycérine ajouter 150 gr de gélatine par 1.000 cm³ de bouillon. Faire fondre à l'autoclave à 100°, neutraliser par NaOH/N en présence de phénolphtaléine, laisser refroidir jusqu'à 60°, coller au blanc d'œuf (un blanc d'œuf délayé dans 30 à 40 cm³ d'eau). Agiter à la baguette de verre. Porter à l'autoclave pendant vingt minutes à 100°. Filtrer avec précaution en décantant. Répartir en tubes et stériliser par deux chauffages successifs à 105°.

4° POMME DE TERRE ET ARTICHAUT ⁽²⁾

Laver, essuyer et peler les pommes de terre. Couper en morceaux de dimension voulue et en biseau. Laver sous l'eau courante et placer dans des tubes garnis préalablement à l'extrémité inférieure d'un tampon d'ouate hydrophile imbibé d'eau. Fermer et passer à l'autoclave trente minutes à 120°.

Même préparation pour l'artichaut dont on emploie le cœur et le foin seulement.

(1) Toutes les peptones ne permettant pas la mise en évidence de la fonction indologène, il est nécessaire de s'assurer au préalable, par culture de colibacille, si cette solution de peptone donne l'indol. J'ai utilisé généralement la peptone Defresne.

(2) En général, tous les milieux naturels étant de composition extrêmement variable, il y a avantage à en préparer une assez grande quantité, pour qu'une même série de recherches soit accomplie par les mêmes échantillons.

Cette remarque s'applique particulièrement à l'artichaut dont les capitules donnent des résultats différents avec la même culture bactérienne.

5° LAIT TOURNESOLÉ

Additionner le lait d'une quantité suffisante de teinture de tournesol (en tenant compte de ce fait qu'une certaine quantité de tournesol est détruite par chauffage), neutraliser s'il y a lieu par NaOH/N, répartir en tubes et stériliser.

Il est à remarquer que la coagulabilité du lait varie avec la température à laquelle il a été chauffé. Ainsi, en général, le lait se coagule d'autant plus difficilement qu'il a été chauffé à une température plus élevée, aussi est-il indispensable de stériliser les différents échantillons de lait à la même température.

6° PETIT-LAIT TOURNESOLÉ

Coaguler le lait par addition d'une petite quantité d'acide chlorhydrique, décantier, filtrer, neutraliser par la soude, additionner de tournesol et stériliser.

7° MILIEUX AU ROUGE NEUTRE

On utilise le rouge neutre de deux façons :

- a) En bouillon peptoné glucosé à 1 ‰;
- b) En gélose rouge neutre.

a) Bouillon peptoné glucosé rouge neutre.

On emploie le bouillon de bœuf glucosé à 1 ‰ cité plus haut, auquel on ajoute une quantité déterminée de rouge neutre.

b) Gélose rouge neutre.

Se prépare avec le bouillon précédent que l'on gélose à 5 ‰.

Remarque. — Les différents échantillons commerciaux

de rouge neutre ont un pouvoir colorant très variable. On ne saurait donc, *a priori*, fixer le pourcentage à ajouter à 100 cm³ de bouillon. C'est par tâtonnements successifs que l'on déterminera la dose optima à la mise en évidence du pouvoir réducteur des Bactéries coli et para. Il est préférable, autant qu'il est possible, de stériliser séparément le bouillon et la solution de rouge neutre avant d'opérer le mélange. On a avantage à effectuer une grande quantité de bouillon rouge neutre et à essayer la manière de se comporter de ce milieu en présence d'EBERTH type, de Para ou de Colibacille.

S'il est impossible de fixer un pourcentage, on peut admettre approximativement que le milieu doit avoir une coloration rouge cerise se rapprochant le plus possible des précédents milieux dont on était certain.

Cette remarque, d'ordre général, doit s'appliquer à tous les milieux colorés.

8° GÉLOSE AU PLOMB

Ajouter par gouttes une solution de sous-acétate de plomb du commerce renfermant 27 à 28 % de sous-acétate, à la gélose 5 ‰ préalablement fondue (I à IV gouttes par tube, suivant le débit de la pipette). Pratiquer les ensemencements par piqûres le long des parois du verre.

9° SÉRUMS AGGLUTINANTS

L'agglutination en vue d'une identification des groupes EBERTH et Para ne doit être effectuée qu'avec des sérums expérimentaux (jamais avec du sérum humain). On peut se procurer ce sérum à l'Institut Pasteur ou le préparer soi-même en injectant à des lapins, par injections intraveineuses, des doses successives d'EBERTH, de Para A ou Para B. Ces

inoculations doivent être faites avec des Bacilles de collection connus et de grande agglutinabilité. En outre, il faut titrer son sérum en se rappelant que l'identification par agglutination n'a de valeur que dans les environs du taux limite.

PROCÉDÉ MARTIN

Si, dans la majorité des cas, j'ai utilisé le procédé à la bile, j'ai eu l'occasion d'employer le procédé MARTIN, qui m'a donné d'excellents résultats mais dont le seul inconvénient est la nécessité d'ensemencer au lit du malade, condition qui n'est pas toujours réalisable.

La technique de MARTIN consiste dans l'emploi d'un bouillon « panse-foie ».

Pour préparer ce milieu, on prend :

Estomac de porc haché	200 gr.
Foie de bœuf ou de porc	200 gr.
Acide chlorhydrique du commerce . . .	20 gr.
Eau	2 l.

Ce mélange est mis à digérer à 50° pendant douze à vingt-quatre heures dans une marmite en terre. Avant d'ajouter la viande, l'eau est portée vers 45°, puis on ajoute la viande et l'acide chlorhydrique. La marmite est placée sur une flamme de gaz brûlant en veilleuse et réglée à 50°. Au bout de vingt-quatre heures le liquide est porté à l'ébullition, puis refroidi et, après un repos de vingt-quatre à quarante-huit heures, décanté. Pour cela on siphonne la partie superficielle et claire du liquide, et on laisse dans la marmite la partie profonde qui contient la mucine et les débris d'organes non digérés.

Le liquide, versé dans une marmite émaillée et porté à 70°, est additionné de solution de soude (en vérifiant au

papier tournesolé) jusqu'à neutralisation, puis porté à l'ébullition et filtré sur papier CHARDIN. Le filtrat est ensuite passé à l'autoclave à 120° pendant quinze minutes et filtré sur papier LAURENT, et réparti dans des matras d'essayeur de commerce à raison de 50 à 75 cm³ par vase.

Ce milieu est très avantageux en ce sens qu'il est aussi facile à préparer que le bouillon de viande ordinaire et qu'en outre il contient la bile et le glucose, fournis par la digestion même du foie, par la panse de porc.

Ensemencé à raison de 2 à 5 cm³ de sang, ce milieu peut déjà donner au bout de vingt-quatre heures une indication différentielle. En effet, le Bacille typhique ne donne pas de bulles de gaz ou très peu, le voile est ordinairement net et épais, et le liquide devient légèrement acide et reste acide.

Les Bacilles paratyphiques *A* et *B*, au contraire, donnent un dégagement gazeux abondant, et le milieu, qui tout d'abord devient acide, ne tarde pas à revenir à l'alcalinité plus rapidement pour le Bacille paratyphique *B* que pour le Bacille paratyphique *A*.

La différenciation des espèces bactériennes se fait à ce moment comme dans le procédé général cité plus haut.

D'après DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et LECLERQ, les résultats positifs dans les hémocultures sont plus fréquents avec ce milieu qu'avec les autres procédés. De plus, le bouillon panse-foie se garde bien et conserve longtemps ses propriétés culturales.

Je citerai encore pour mémoire le procédé ORTICONI (1915) (111). Cet auteur propose une technique analogue à celle de MARTIN, c'est-à-dire l'emploi d'un bouillon de viande glucosé dans lequel il ajoute de la bile. La différenciation se fait très rapidement entre le Bacille typhique d'une part et les Bacilles paratyphiques *A* et *B* d'autre part, par l'examen du dégagement gazeux et de l'alcalinité et de l'acidité du milieu.

Ce procédé a pu rendre de grands services sur le front des armées où il s'agissait de donner très rapidement une indication aux cliniciens, mais il ne m'a pas fourni d'aussi bons résultats que le procédé à la bile.

Je ne puis me dispenser, à cause de son originalité, de rappeler en dernier lieu la technique de WEIL-HALLÉ et CARNOT (1915) (96).

Ces auteurs utilisent un tube en V spécial.

Dans la partie inférieure étranglée se trouve du sable fin, dans l'une des branches de la bile de bœuf et dans l'autre du bouillon peptoné. La bile estensemencée par le sang du malade. Si ce sang contient des Bacilles typhique ou paratyphique, l'extrême mobilité de ces Bactéries leur permettra de traverser la couche de sable et de fournir très rapidement une culture. Il sera alors facile de différencier les espèces microbiennes.



Il en est du procédé d'ORTICONI, de WEIL-HALLÉ et CARNOT comme de tous les procédés basés uniquement sur un seul caractère. Ces méthodes d'investigation peuvent donner des indications précieuses, mais non des certitudes.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DES BACILLES PARATYPHIQUES

BACILLES PARATYPHIQUES

L'aridité des tableaux synoptiques précédents m'incite à insister plus particulièrement sur les caractères des Bacilles paratypiques. Les infections causées par ces germes, rares avant la guerre, sont devenues très fréquentes.

Ces Bacilles se divisent en deux groupes principaux : type *A* et type *B*.

Ce sont des bâtonnets courts, très mobiles, ne prenant pas le Gram; leur température optima est de 37°. Sur plaque de gélatine, les colonies sont arrondies, presque transparentes (*type A*), ou blanchâtres et épaisses (*type B*), sans vallonements. Ces Bactéries réduisent le rouge neutre et ne produisent pas d'indol.

Les tableaux précédents comportent quelques exceptions : ainsi certains Bacilles paratypiques *B* donnent sur gélatine des cultures peu épaisses semblables au type *A*, et de même ces Bactéries ne donneront sur pomme de terre qu'un faible glasis.

On a préconisé encore, pour la diagnose de ces espèces, l'emploi de gélose au nitroprussiate de soude. Les paratypiques *B* développent en deux à cinq jours une coloration

verte intense alors que la réaction est beaucoup moins prononcée avec les paratyphiques A.

Les laboratoires d'armée utilisent la gélose au plomb (Voir appendice, p. 71).

Il est à remarquer cependant que la sensibilité des Bacilles paratyphiques est inégale et ne se prête à aucune règle générale. C'est ainsi que les cultures sur lait et petit-lait peuvent donner lieu à des réactions douteuses. Certains Bacilles du type A et nombre de Bacilles typhiques provoquent le caméléonage des milieux tournesolés et l'alcalinisation secondaire du lait. Il est vrai que, dans ces conditions, ce phénomène est tardif et ne peut apparaître que du *onzième au trente-cinquième jour*, mais constatons de suite que certains échantillons du type B ne présentent que très rarement d'agglutination plus tôt.

A l'égard du glucose les paratyphiques sont des ferments plus énergiques que le Bacille typhique ; ils font fermenter ce sucre avec dégagement de gaz.

CHEVREL et SACQUÉPÉE (1905) (112) estiment que la fermentation sur milieux anaérobies liquides ou sur gélose profonde est préférable à la fermentation sur milieux carbonatés.

Le galactose, le lévulose et le maltose fermentent également comme le glucose, mais les deux premiers avec moins d'intensité. La fermentation des milieux arabinosés varie suivant les types.

Tous les Bacilles paratyphiques acétifient, mais seul le type A dégage des gaz en milieux anaérobies. Ces réactions doivent attirer l'attention, car, dans les mêmes conditions, le Bacille typhique ne fermente pas.

Les alcools polyatomiques, dulcite, mannite et glycérine, fermentent moins facilement que les sucres. L'action sur la dulcite est particulièrement intéressante, le Bacille para-

typhique *B* la faisant fermenter plus fortement que le Colibacille.

J'ai réuni dans le tableau ci-dessous les réactions différentielles des paratyphiques *A* et *B* sur les sucres :

	PARA <i>A</i>	PARA <i>B</i>
Fermentation facile. Dégagement de gaz nul.	Glucose, lévulose, maltose, galactose.	Même action que para <i>A</i> , mais plus énergique.
Fermentation faible. Dégagement de gaz nul, seulement acidif.	Dulcite, mannite, glycérine, arabinose.	Id.
Fermentation nulle.	Raffinose, saccharose, lactose.	Id.

Le classement de certains échantillons est quelquefois difficile; tels sont les Bacilles de WELLS SCOTT, de GWYN et CUSHING, et pratiquement la classification en types *A* et *B* présente de nombreuses difficultés.

Le type *B* se rapproche, d'une part, des Bacilles de GARTNER, du Bacille de la psittacose, des *Bacilles du groupe intermédiaire* de DÜRRHAM, et, d'autre part, du Colibacille. Les caractères cultureux communs ont même fait confondre ces différentes espèces par certains auteurs (TROTSMANN, SCHOTTMULLER). Entre le Bacille paratyphique *B* et le Bacille coli existent un assez grand nombre de Bacilles *coli aberrants*, tels que les *paracolibacilles* de GILBERT se rapprochant singulièrement du type *B*, de sorte que la moindre faute de technique peut prêter à confusion. Cette dénomination de *paracolibacilles* a été donnée par nombre d'auteurs (WIDAL et NOBÉCOURT, GWYN, SION, NEGEL, etc.). Toutefois ce dernier terme semble imprécis.

Le Bacille du type *A* se rapproche davantage du Bacille typhique et s'en distingue par quelques particularités

(réaction sur milieu au rouge neutre, cultures sur milieux métalliques et fermentation des sucres).

Certains auteurs tendent à considérer les Bacilles paratyphiques comme des² intermédiaires entre le Bacille coli et le Bacille d'EBERTH, quoique dans quelques cas rien ne le justifie. Il est plus rationnel d'admettre qu'il existe un groupe de Bacilles paratyphiques indépendants qu'il est inutile de subordonner à des espèces voisines (sauf cependant avec le Bacille de GARTNER).

Connaissant ces généralités sur les Bacilles paratyphiques, il est logique de penser que l'on pourra mettre en évidence une infection causée par une espèce microbienne par le procédé de l'agglutination.

Cependant, d'une part, différents auteurs, parmi lesquels DÜRRHAM, GRÜNBERG et ROLLY (1905) (90), etc., ont constaté que le sérum de certains typhiques agglutine souvent autant et parfois plus le *Bacillus enteridis* que le Bacille typhique; d'autre part, les travaux de NOBLET, KAYSER, TROTTMANN ont montré que les typhisérums expérimentaux n'avaient qu'une action très faible sur le Bacille de GARTNER.

Selon qu'on isole d'un sang le Bacille d'EBERTH ou un Bacille paratyphique, il s'agit d'infection typhique ou paratyphique; en tout cas, si l'on veut être fixé sur les réactions spécifiques des sérums humains, il est de toute nécessité de connaître au préalable l'agent infectant de manière à opérer *in anima nobilis* avec autant de sécurité que peut faire l'expérimentation *in anima vili*; faute de cette précaution, on s'expose à émettre des propositions erronées ou sans autorité.

De ce qu'un sérum agglutinait un Bacille paratyphique on en a souvent conclu qu'il devait agglutiner tous les Bacilles paratyphiques par analogie avec l'agglutination

éberthienne. Il y a là pour SACQUÉPÉE et CHEVREL (1905) (113) une nouvelle cause d'erreur.

RELATIONS D'AGGLUTINATION

1° SÉRUMS NORMAUX

Les sérums normaux peuvent agglutiner les Bacilles paratyphiques à des dilutions de $1/50^{\circ}$ à $1/150^{\circ}$. Il en résulte qu'une séro-réaction inférieure à ces chiffres ne présente pas un grand crédit. En général, les sérums à para *A* et *B* sont faiblement agglutinants; le taux d'agglutination limite varie de $1/100^{\circ}$ à $1/200^{\circ}$. SACQUÉPÉE et CHEVREL (1905) (113) relatent le cas d'un sérum agglutinant à $1/1000^{\circ}$, tandis que tous les sérums *B* offrent un taux d'agglutination très élevé qui peut aller jusqu'à $1/40000^{\circ}$ [KORTE (1905) (114)].

Les parasérums *A* et la grande majorité des parasérums *B* ont toujours été très agglutinants pour le Bacille d'EBERTH.

2° SÉRUMS TYPHIQUES SUR BACILLES PARATYPHIQUES

Les sérums typhiques peuvent avoir un pouvoir coagglutinant pour les paratyphiques, mais, suivant JOHNSTON, KORTE et STEINBERG (1905) (114), la coagglutination paratyphique est toujours inférieure de moitié au moins à l'agglutination spécifique typhique.

Pour d'autres auteurs la coagglutination est parfois [RIEUX et SACQUÉPÉE (1905) (115)] ou souvent [CONRADI (1910) (99), GRÜNBERG et ROLLY (1905) (116), JÜRGENS (1904) (54), DRIGALSKY, FISCHER, LINTZ] supérieure à l'agglutination spécifique. DRIGALSKY et JÜRGENS confirment ces faits après avoir démontré à l'autopsie que cette affection était bien de nature éberthienne pure.

En résumé, lorsqu'un sérum humain agglutine plus le Bacille d'EBERTH que les Bacilles paratyphiques, il faut conclure en faveur d'une affection éberthienne pure. Par contre, lorsqu'un sérum agglutine plus les paratyphiques que le Bacille d'EBERTH, rien n'autorise actuellement à conclure qu'on se trouve en présence d'une affection paratyphique. La saturation des agglutinines, qui serait un procédé de choix avec les sérums expérimentaux, ne donne qu'un résultat douteux avec les sérums humains [SACQUÉPÉE et CHEVREL (1905) (112)].

Dans leur manuel récent, DOPFER et SACQUÉPÉE (1915) (152) écrivent les lignes suivantes à propos de Bacilles paratyphiques A :

« Les sérums des malades atteints n'ont qu'une action presque toujours faible sur le Bacille infectant ; d'autre part, ces mêmes sérums peuvent agglutiner au même taux le Bacille d'EBERTH ou le Bacille paratyphique B ; aussi ne peut-on, pour le moment, baser le diagnostic de la maladie exclusivement sur la recherche de la séro-réaction. » (Page 477.)

Et à propos du Bacille paratyphique B :

« Il est établi que le Bacille paratyphique B peut être agglutiné fortement par le sérum de malades atteints de fièvre typhoïde (à Bacille d'EBERTH), parfois autant et même plus que le Bacille typhique lui-même. Cette constatation invite à n'utiliser qu'avec prudence le séro-diagnostic à l'égard du Bacille paratyphique B ; une agglutination nettement positive pour le Bacille paratyphique B peut en effet se rencontrer non seulement dans les affections paratyphoïdes, mais encore dans la fièvre typhoïde. » (Page 482.)

Malgré ces opinions autorisées qui établissent l'insuffisance de la séro-réaction pour la différenciation des Bacilles typhiques et paratyphiques, quelques auteurs ont cru pou-

voir édifier des recherches et des conclusions sur ce sujet en ne se servant que de cette méthode.

Ces partisans de l'agglutination considèrent la séro-réaction comme un procédé rapide et certain de diagnostic des fièvres typhoïdes. Jusqu'à présent les fièvres paratyphoïdes avaient pu être considérées comme des exceptions. La campagne 1914-1915-1916 m'a fourni l'occasion de constater combien étaient nombreuses ces affections paratyphiques. La saturation des agglutinines pourrait peut-être donner des résultats précis, mais, ainsi envisagée, l'agglutination n'est plus une méthode simple et devient une opération assez longue, nécessitant de nombreuses précautions.

SUJETS VACCINÉS

D'ailleurs actuellement, au point de vue militaire, il faut tenir compte de la vaccination antityphoïdique. Les résultats obtenus par la séro-réaction sont encore plus incohérents et rendent la différenciation des affections très difficile, car cette vaccination communique au sérum sanguin du sujet vacciné des propriétés agglutinantes dont le taux varie avec l'individu. La séro-réaction sera donc incapable de révéler une affection éberthienne, le pouvoir agglutinant persistant dans le sang.

A l'égard des infections paratyphiques éventuelles l'incertitude demeure, car l'inoculation vaccinale est suivie de l'apparition dans le sang, non seulement d'agglutinines, mais encore de coagglutinines. Leur présence est inconstante et variable il est vrai, mais parfois prépondérante.

Il y a plus : si on a observé des fièvres typhoïdes à Bacilles d'EBERTH, à para A, à para B, il ne faut pas oublier que de nombreuses affections sont déterminées par des organismes voisins, mais non identiques à ces germes,

organismes qui ne sont pas justiciables de la séro-réaction, les sérums agglutinants expérimentaux de ces germes restant inconnus. Tels sont les *Bacilles intermédiaires*.

C'est ainsi que MANDELBAUM (1904) (117), dans une affection à allure typhique, isole du sang une variété du Bacille d'EBERTH qui s'en différencie toutefois par certains caractères. Il lui donne le nom de Bacille métatyphique. Il trouva ce germe dans 50 % des cas. Chez un autre malade, alors que le sérum sanguin agglutinait les Bacilles paratyphiques, la rate donna à l'autopsie des cultures pures de *fæcalis alcaligenes*.

NIETER (1908) (118) étudie, après l'auteur précédent, ce Bacille métatyphique.

MAROTTE (1909) (119) retire du sang de malades présentant le tableau clinique de fièvres typhoïdes graves un Bacille ayant les caractères généraux du Bacille d'EBERTH, mais s'en différenciant par une teinte bleue de plus en plus marquée sur lait tournesolé. Les colonies sur gélatine sont peu transparentes et sont rosées sur ENDO. Le sérum de ce malade n'agglutine pas sensiblement ni le Bacille d'EBERTH ni les paratyphiques, mais il agglutine les Bacilles homologues.

Je puis citer aussi la forme isolée par LINGELSHEIM (1913) (120) qui, tout en étant très voisine du Bacille typhique s'en distingue par des caractères cultureux (forme des colonies et trouble du bouillon).

A côté de ces formes, de ces variations de Bacilles typhiques, on rencontre des espèces paratyphiques nouvelles.

Ainsi GUERBET et HENRY (1905) (121) ont isolé de la rate d'un typhique un microbe intermédiaire paraissant se placer entre les groupes para A et para B.

LAFFORGUE (1908) (14) confirme ces faits dans un cas de fièvre typhoïde légère. Il isola par hémoculture un Bacille

présentant la plupart des caractères des Bacilles paratyphiques, mais s'en détachant nettement par certaines particularités, notamment par l'alcalinité progressive et précoce du bouillon tournesolé. D'autre part, le sérum du malade agglutinait le Bacille au 1/150^e et était négatif par l'EBERTH.

FAROY (1908) (122) a isolé également, dans un cas de fièvre continue à allure typhoïde, un Bacille présentant des caractères de culture et d'agglutination intermédiaires entre le para *A* et le para *B*.

Indépendamment de ces Bacilles intermédiaires, il existait [WIENS (1909) (123), SCHÖNE (1910) (124)] des formes bacillaires possédant tous les caractères cultureux du Colibacille et offrant, par contre, des propriétés pathogéniques des para *A*.

PATRICK (1914) (129) a isolé d'un certain nombre de typhiques des microbes qui n'étaient pas des Bacilles d'EBERTH, mais des variétés de Colibacilles non encore décrites.

CHAPITRE V

CONSTATATIONS NOUVELLES AU COURS DE LA CAMPAGNE

J'ai eu l'occasion d'observer de nombreux échantillons de Bacilles paratyphiques isolés du sang de malades présentant des symptômes d'affections paratyphoïdes. Si l'on pouvait classer la plus grande partie de ces malades parmi les paratyphiques *A* et *B*, un certain nombre d'entre eux se différenciaient nettement de ces deux formes. Tandis que les uns présentaient les caractères généraux des para *A*, ils se rapprochaient par d'autres propriétés des para *B* et avaient par contre des caractères communs avec le Bacille d'EBERTH. L'agglutination par les sérums expérimentaux, à un taux élevé s'entend (les taux faibles n'ayant aucune valeur), ne permettait de les rattacher ni au groupe *A* ni au groupe *B*, et en particulier j'ai observé, au point de vue forme de l'agglutination, un élément microbien qui se réunissait et s'immobilisait en chaînettes au lieu d'agglutiner en amas.

La séro-réaction devient donc insuffisante pour différencier ces espèces, faute de sérums expérimentaux correspondants. Cette insuffisance s'accroît de plus en plus lorsqu'on est en présence de septicémies qui présentent tous les carac-

tères cliniques des affections typhoïdes et qui cependant dérivent de germes très différents.

Au cours de l'épidémie de fièvre typhoïde qui a sévi dans les régions avoisinant Nancy pendant les derniers mois de 1914 et pendant les premiers mois de 1915, j'ai eu l'occasion d'observer un très grand nombre de malades qui ne présentaient pas le tableau clinique habituel de la dothiéntérie. Ils en présentaient cependant un certain nombre de symptômes, puisqu'ils étaient évacués sur le centre hospitalier avec le diagnostic de fièvre typhoïde avérée ou suspecte. Ces faits étaient d'autant plus intéressants que la vaccination antityphique avait été fort heureusement répandue dans toute l'armée. Il a fallu ici s'adresser aux méthodes de laboratoire qui, seules, permettent de définir d'une façon rigoureusement scientifique la nature exacte des états infectieux soumis à l'analyse. Le procédé le plus simple consistait à effectuer des séro-réactions, mais du jour où il fut démontré qu'une ou plusieurs vaccinations antityphiques entraînaient d'une façon presque fatale la positivité de la séro-réaction, j'ai dû abandonner cette méthode de recherche pour m'adresser à la méthode des hémocultures. C'est par ce procédé que SARTORY, L. SPILLMANN et LASSEUR (1915) (125) sont arrivés à déceler dans le sang des malades suspects de dothiéntérie la présence d'un microcoque auquel ils ont donné le nom de *Micrococcus paratyphoideus*.

MICROCOCCUS PARATYPHOIDEUS SARTORY ET LASSEUR

La fréquence de ce germe dans les hémocultures incita les auteurs à rechercher si cette présence n'était pas accidentelle et due à un micrococcus banal de la peau. Le prélèvement du sang fut particulièrement soigneux : savon-

nage de la peau, lavage à l'alcool et à l'éther, et application de teinture d'iode, puis piqûre profonde au thermocautère à l'endroit précis où devait pénétrer l'aiguille.

L'ensemencement du sang et l'isolement du germe sur gélose peptonée glucosée donne un coccus arrondi, ou très largement ovalaire, relativement de petite taille ($0\mu 6$ à $0\mu 7$), le plus souvent groupé par deux (forme diplocoque), entouré d'une auréole hyaline colorable, ou en chaînettes tantôt courtes, composées de trois ou quatre grains, ou quelquefois en tétrades ou en amas irréguliers. On peut facilement l'observer sans coloration préalable, mais il se colore bien par les couleurs basiques d'aniline et prend le Gram. Il cultive entre $+ 22^{\circ}$ et $+ 46^{\circ}$. Son optimum cultural est au voisinage de $+ 37^{\circ}$. Il fait fermenter le glucose, le galactose et le lévulose, mais non le lactose. Il ne donne ni indol ni phénols. Il ne fait pas fermenter l'urée ; il coagule le lait et dissout la caséine.

Il pousse très mal sur gélatine à $+ 18^{\circ}$, sur pomme de terre et sur carotte. Sur gélose glycinée acétisée, il ne donne aucune odeur butyrique, même après un mois.

Il ne fournit pas d'hémolysine, mais provoque une réduction de l'hémoglobine qui peut aller jusqu'à la précipitation.

L'agglutination d'une culture de ce diplocoque a pu atteindre chez certains individus $1/100^{\circ}$ et le sérum des animaux injectés peut donner, par le procédé lent, un taux d'agglutination allant jusqu'à $1/1500^{\circ}$. Les expériences des auteurs sur ce point continuent.

Pendant cette campagne 1914-1915-1916, de nombreux auteurs ont signalé la présence de microbes apparentés au genre micrococcus. Pour mémoire, je citerai :

OETTINGER et FIESSINGER (1907) (126), BROQUIN-LACOMBE, BOURGES, LANCELIN, TREMOLIÈRES et LOEW, DUJARRIC DE LA

RIVIÈRE et LECLERQ, PORTIER, JOLY, PROTHIÈRE, MARÉCHAL, ROTHÉA, BLUM, SACQUÉPÉE, WEISSENBACH, BRUNET, etc.

Ces affections à allure typhoïde causées par des micrococci étaient déjà signalées depuis quelques années. C'est ainsi que ROCCHI (1907) (127) a pu déceler dans quatre cas, par hémoculture, la présence d'un germe qui paraissait identique à l'Entérocoque de THIERCELIN, mais dont les colonies étaient semblables à celles du Staphylocoque blanc. Or, comme chez ces malades le séro-diagnostic était négatif, l'auteur se demande s'il ne s'agissait pas d'une infection entérococcique.

De même LAGRIFFOUL, BOUSQUET et ROGER (1910) (128) montrent que l'infection pyocyanique peut se présenter sous forme d'une septicémie très analogue à la fièvre typhoïde.

ASSOCIATIONS

A côté de ces infections dues à un seul germe, on a pu déceler par hémoculture des septicémies dérivant de la présence dans le sang de deux germes différents associés.

Dès 1888, POLGUÈRE (147) signale la poussée successive de complications à Staphylocoques et à Streptocoques au cours de la fièvre typhoïde.

WASSERMANN (1893) (148) signale également des infections mixtes à Bacille d'EBERTH et Streptocoque, et dans tous les cas l'auteur trouve le Streptocoque dans le sang.

D'après LOISON, SIMONIN et ARNAUD (1893) (149), les quinze ou vingt premiers jours de fièvre sont l'œuvre du Bacille d'EBERTH, et la fièvre ultérieure serait l'œuvre du Staphylocoque dans le sang.

BRUNEAU (1893) (150) rapporte les observations d'associa-

tion de Bacille d'EBERTH avec les Streptocoques et Staphylocoques.

SPILLMANN P. (1898) (151) observe que, lorsque « les germes d'infection secondaire ont pénétré dans le sang comme facteurs d'infection mixte ou d'infection secondaire, ils peuvent déterminer de la pyoémie et une septicémie dont le tableau clinique se confond avec celui de la fièvre typhoïde ».

SICRE et DOMENG (1907) (130) signalent le cas d'une fièvre méditerranéenne, et SAMUT (1910) (131) confirme les résultats du précédent en montrant que non seulement la fièvre de Malte peut être compliquée d'une fièvre paratyphoïde, mais encore que cette dernière peut simuler cliniquement la fièvre méditerranéenne. Le décours clinique était celui de la fièvre de Malte typique. Le séro-diagnostic vis-à-vis du *Micrococcus melitensis* fut négatif, par contre l'hémoculture et l'agglutination furent positives à l'égard du Bacille paratyphique.

BABES V. et FEODORASCO C. (1909) (132) relatent que chez plusieurs malades qui avaient succombé à des symptômes typhiques (sans que leurs sérums aient agglutiné l'EBERTH et les paratyphiques), l'autopsie a révélé la présence de Streptocoques associés à des microbes du groupe Coli.

GLATARD et MAROTTE (1909) (133) observent que chez certains individus atteints d'une affection rappelant plus le typhus que la fièvre typhoïde, l'hémoculture met en évidence la présence de deux microbes, l'un non encore identifié, et l'autre, un Bacille intermédiaire.

Parmi les microorganismes pathogènes susceptibles de s'associer chez l'homme avec le Bacille de la fièvre typhoïde et de déterminer ainsi une infection générale mixte, primitive ou secondaire, le Streptocoque paraît tenir de beaucoup la première place [VINCENT (1892) (135)].

Toutefois, pendant cette guerre, la fréquence du *Micrococ-*

cus paratyphoideus (18 % des cas) a pu me faire considérer cet organisme comme résultant peut-être d'une association avec le Bacille typhique. L'hémoculture mettait seulement ce germe en évidence, la vaccination antityphique faisant disparaître dans le sang le Bacille d'EBERTH. Ce n'est là qu'une hypothèse.

Quelques auteurs, entre autres SACQUÉPÉE et LANGLET (1915) (134), signalent des infections mixtes produites par deux micrococcus différents. Ils décèlent par hémoculture dans tous les cas, sans exception, la présence simultanée de deux germes différents, d'une part le Tétragène blanc ambré, doré, d'autre part un Diplocoque identique, par ses caractères culturels, à l'Entérocoque⁽¹⁾. La seule particularité notable est la disposition constante en diplocoque, sans tendance au polymorphisme, caractère qui ne paraît pas suffisant pour distraire ce diplocoque du groupe entérocoque.

Il résulte de ce qui précède que les divers états typhoïdes précédents, affections typhoïdes par Bacille d'EBERTH, par paratyphiques A et B, par Bacilles intermédiaires, et infections surajoutées ou mixtes, démontrent en toute évidence l'insuffisance de la séro-réaction.

En effet, au début de ces maladies l'état humoral est variable : il peut se présenter des agglutinines éberthiennes et des coagglutinines en proportions variables ou bien seulement des agglutinines étrangères où le sérum peut être inactif. A un moment donné, l'infection transforme tout, et à la fin de la maladie on peut constater soit la disparition du phénomène de l'agglutination, ou la persistance des agglutinines développées au cours de l'infection, soit que celles-ci ont été éphémères et que, pour ces raisons, seule demeure l'aggluti-

(1) Je ferai remarquer ici que l'Entérocoque est surtout caractérisé par son polymorphisme et il est probable que le microbe isolé par SACQUÉPÉE, WEISENBACH et BRUNER était le *Micrococcus paratyphoideus*.

nation de l'agent infectant (tout au moins en ce qui concerne le Bacille d'EBERTH et les Bacilles paratyphiques A et B). Il semble donc impossible par la séro-réaction de fournir à la clinique des données précises sur une infection causale.

Cependant les partisans du séro-diagnostic reprochent à l'hémoculture d'être trop souvent négative.

Cette thèse est erronée.

En effet, dès 1904, JÜRGENS (85) prétendait que l'on ne pouvait attribuer au taux agglutinatif le plus élevé une valeur spécifique pour un sérum donné, et que la séro-réaction ne donne pas de points de repères certains pour le diagnostic étiologique d'un cas déterminé.

KURPJUWEIT (1907) (136) remarque que, sur douze cas où l'hémoculture était positive, quatre fois la séro-réaction de WIDAL fut négative.

BIRT (1908) (84) insiste sur l'utilité de l'isolement du sang de l'agent causal des fièvres à allure typhoïde, et cela dans un triple but, diagnostique, pronostique et thérapeutique.

LÉON BLUM (1907) (137) estime que l'hémoculture est le procédé de choix d'une valeur décisive et que la séro-réaction exige toujours un examen approfondi, mais n'a qu'une valeur relative.

POUR GAETHGENS-WALTER (1912) (138), l'ensemencement du sang reste le procédé de choix, surtout au cours du premier septénaire. Il ajoute cependant que la séro-réaction est de premier ordre dans la pratique journalière.

STATHAM (1908) (139), KONRICH (1909) (140), ROUSSEL (1913) (141), etc., reconnaissent la supériorité de l'hémoculture, et déclarent qu'elle est seule capable de donner des résultats positifs et dans des proportions élevées.

Il résulte en effet des recherches des savants cités ci-après que la bactériémie, qui doit être la règle dans le pre-

mier septénaire de la maladie, devient de moins en moins fréquente pendant les suivants.

Leurs résultats peuvent être ainsi exprimés :

EPSTEIN (1908) (142) :

95 % des cas positifs dans le premier septénaire ;
60 % à partir du deuxième.

Remarque : En cas de rechute, la bactériémie s'observe au plus tôt vers le quatrième jour, et cette rechute est de courte durée.

KONRICH (1909) (140) :

Résultats positifs dans 70 % des cas.

SASKI (Stéphane) (1908) (143) :

56 % des cas au deuxième septénaire.

ROCCHI (1907) (127) :

Obtient de meilleurs résultats dans les deux premiers septénaires.

TZEIDLER (1907) (101) :

100 % des cas dans la première semaine ;
80 % à la deuxième.

COLEMAN et BUXTON (1904) (144) :

93 % dans la première semaine ;
76 % dans la deuxième.

L. ROUSSEL (1913) (141) :

100 % dans la première semaine.

GAETHGENS-WALTER (1912) :

Positive dans presque 100 %.

SARTORY et LASSEUR :

64 % de positives.

Au point de vue statistique des différents germes isolés je citerai :

STATHAM (1908) (139) a isolé :

19 fois le Bacille d'EBERTH ;
3 — le para A ;
2 — le para B.

CONRADI (1906) (145) a isolé :

- 21 fois le Bacille d'EBERTH ;
- 3 — le para.

ROUSSEL (1914) (141) sur 260 cas trouve :

- 207 fois le Bacille d'EBERTH ;
- 6 — le para A ;
- 50 — le para B ;
- 1 — un Bacille intermédiaire.

SARTORY et LASSEUR (1915) (146), sur 500 cas :

- 125 fois le Bacille d'EBERTH ;
- 40 — le para B ;
- 10 — le para A ;
- 10 — le coli ; para X, Y, Z ;
- 90 — le Diplocoque ;
- 20 — le Streptocoque ;
- 10 — le Staphylocoque ;
- 15 — des associations microbiennes diverses.

Il est à remarquer, d'après la statistique précédente, que les affections paratyphoïdes tendent à se répandre et que l'hémoculture devient de plus en plus nécessaire. Grâce à ce procédé le laboratoire auquel je fus attaché fut le premier à signaler de nombreuses affections paratyphoïdes dans le secteur desservi.

CONCLUSIONS

Il résulte de mes observations personnelles effectuées au cours des années 1914-1915 et au début de 1916, sur plus de 2.000 cas, que :

1° Le séro-diagnostic au 1/40° ou au 1/50° n'a pas une grande signification ; au 1/80° et 1/100° il peut rendre des services chez des individus non vaccinés pour le diagnostic précocé de la fièvre typhoïde à Bacille d'EBERTH légitime ; encore ne faut-il pas en exagérer l'importance ;

2° La date d'apparition des agglutinines n'est pas constante ;

3° Le procédé de l'agglutination n'apparaît plus comme un procédé rapide et certain. Il constitue un moyen d'investigation précieux, mais ne peut permettre en aucun cas de différencier d'une façon indiscutable les Bacilles paratyphiques *A*, *B* ou *G* ;

4° L'agglutination avec des sérums expérimentaux peut rendre de très grands services du jour où le microbe a été décelé à l'état de pureté ;

5° Parmi les procédés bactériologiques et biologiques de choix figure en premier lieu l'hémoculture. C'est par cette méthode que beaucoup d'auteurs ont pu déceler d'une façon à peu près constante le Bacille véhiculé par le sang ou le

microbe de l'infection. On a pu isoler ainsi dans les premiers jours de la maladie le Bacille typhique, les Bacilles paratyphiques *A*, *B*, *G*, les Bacilles intermédiaires, le *Micrococcus paratyphoideus*, les espèces associées, etc., que l'on peut alors identifier d'une manière scientifique par les méthodes biologiques décrites au cours de ce travail.

Outre l'hémoculture, on peut employer avec succès la biliculture et la coproculture.

Hémoculture, biliculture et coproculture constituent trois méthodes parfois superposables, comme l'ont montré CARNOT et WEIL-HALLÉ (1915), ayant cependant chacune leur indication et qui, utilisées à propos, renseignent à la fois sur l'éclosion de la maladie et la fin de la contagiosité.

Qu'il me soit permis, en terminant, de citer la phrase si juste de Claude BERNARD :

« N'ayons pas un enthousiasme excessif pour les méthodes imparfaitement soumises à une dure épreuve de contrôle, mais gardons-nous aussi du scepticisme poussé trop loin. Abordons ces études en prenant pour guide les principes si féconds de la méthode expérimentale, le raisonnement à l'aide duquel nous soumettons nos idées à l'expérience des faits. »

Vu :

Nancy, le 14 février 1916.

*Le Directeur de l'École supérieure
de Pharmacie,*

D^r L. BRUNTZ.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 15 février 1916.

Le Recteur de l'Académie,

CH. ADAM,

Membre de l'Institut.

APPENDICE

En raison des circonstances actuelles, j'ai cru devoir signaler les méthodes et procédés techniques en usage dans l'armée, concernant l'isolement des germes typhiques et paratyphiques.

Suivent les extraits des notes et circulaires adressées aux laboratoires militaires et relatives à la recherche des germes pathogènes dans les produits pathologiques.

Circulaire du 4 novembre 1915 sur la recherche des Bactéries pathogènes dans les matières fécales.

La technique d'isolement est identique pour la recherche des germes de la fièvre typhoïde et de la dysenterie.

Les matières fécales sontensemencées à la surface d'une plaque de gélose; afin d'éviter l'eau de condensation superficielle, la gélose sera coulée en boîte, vingt-quatre heures d'avance, ou versée, chaude (70-80°), dans la boîte recoiffée de son couvercle après solidification du milieu, ou versée après avoir été maintenue quelque temps au bain-marie à 45°; la solidification s'opère alors de suite, sans évaporation d'eau.

L'ensemencement des matières fécales se fera sur gélose lactosée tournesolée de Würtz ou sur gélose d'Endo.

La gélose d'Endo ne se conserve pas plusieurs semaines; on constitue immédiatement le milieu avec une gélose à 3 % au titre suivant d'alcalinité: 20 cm³ de solution de soude à 10 % pour 1.000 cm³ de gélose préalablement neutralisée au mauve clair du pérésol; à cette

gélose on ajoute une solution lactosée, sulfitée, fuchsinée, qui se conserve longtemps en ampoules scellées.

L'ensemencement de la gélose peut se faire, soit avec une dilution des matières fécales, soit, plus simplement, avec les matières fécales pures (anse de 2 mm de diamètre courbée à angle obtus sur le fil); ensemencer toute la surface de la gélose par des stries parallèles et successives. Les deux ou trois premières stries présentent, après vingt-quatre heures d'étuve à 37°, des colonies confluentes, mais les stries suivantes donnent des colonies isolées.

Sur le milieu d'Endo, le *Bacille coli*, faisant fermenter le lactose, fera virer la fuchsine bisulfitée, sa colonie sera colorée en rouge vil avec le reflet vert des cristaux de fuchsine. Les colonies des *Bacilles* typhiques, des *Bacilles* paratyphiques ou des *Bacilles* dysentériques resteront incolores. Prélever au moyen du fil de platine une parcelle de ces colonies pour examiner la morphologie du germe, à l'état frais (mobilité) et après coloration (Gram, fuchsine sol. aq.); puis ensemencer un tube de gélose inclinée dont la culture servira à identifier l'espèce pathogène.

Identification du *Bacille typhique*, des *Bacilles paratyphiques* et du *Bacille coli*.

L'identification de ces germes se fera à l'aide de leurs caractères bio-chimiques : en *petit-lait tournesolé*, en *gélose glucosée au rouge neutre*, en *gélose au sous-acétate de plomb*; puis, en vérifiant leur agglutinabilité, par un *sérum agglutinant spécifique*.

Dans le *petit-lait tournesolé* l'aspect des cultures est légèrement différent suivant l'alcalinité du milieu.

Le *Bacille typhique* donne une culture discrète qui rougit modérément le tournesol, la teinte rose persiste. Avec un petit-lait alcalin on peut observer un bleuissement secondaire tardif.

Le *Bacille paratyphique A* se comporte comme le typhique sans bleuissement secondaire.

Le *Bacille paratyphique B* se développe rapidement, rougit franchement le milieu, puis le tournesol vire au bleu après vingt-quatre à trente-six heures, en même temps que la surface du liquide se couvre d'un voile bleu foncé.

Le *Bacille coli* pousse abondamment, provoque un dégagement de fines bulles de gaz et rougit le tournesol.

Pour ensemencer les tubes de petit-lait tournesolé, il est indispensable de partir d'une culture sur milieu solide, plutôt que d'une culture

sur milieu liquide, et de ne transporter dans le milieu qu'une pointe de fil de platine de la culture à examiner.

La gélose glucosée au rouge neutre est une gélose *très faiblement alcaline*, à 5 ‰ de gélose, 5 ‰ de glucose et 0^{cm} 7 ‰ d'une solution aqueuse saturée de rouge neutre. Le milieu, tremblotant, est ensemencé par piqûre au moyen du fil de platine. Il y a intérêt à faire trois ou quatre piqûres dans la gélose, le long du verre. Dans ce milieu :

Le *Bacille typhique* se développe tout le long de la strie sans donner lieu à un dégagement de bulles de gaz, le milieu reste rouge ;

Le *Bacille paratyphique A*, après douze à trente-six heures, suivant les échantillons, donne lieu à un dégagement de bulles de gaz, le milieu décoloré devient fluorescent, jaune à reflets verts ;

Le *Bacille paratyphique B* donne lieu à un dégagement de bulles de gaz, le milieu devient rapidement fluorescent (Quelques échantillons de paratyphiques *A* et *B* donnent seulement des bulles de gaz sans changement de teinte) ;

Le *Bacille coli* disloque la gélose par suite du grand dégagement de gaz, la fluorescence apparaît très rapidement.

La *gélose au sous-acétate de plomb* ne doit pas être préparée longtemps d'avance : la solution de sous-acétate de plomb du commerce renfermant 27 à 28 ‰ de sous-acétate est ajoutée par gouttes à la gélose (gélose à 5 ‰) préalablement fondue (une à quatre gouttes par tube suivant le débit de la pipette).

Lorsque la gélose a fait prise, on ensemence par trois ou quatre piqûres, le long du verre, comme dans la gélose glucosée au rouge neutre.

Le *Bacille typhique*, après dix-huit à vingt-quatre heures d'étuve, noircit le milieu le long des stries d'ensemencement.

Le *Bacille paratyphique A* ne noircit pas.

Le *Bacille paratyphique B* noircit.

Le *Bacille coli* ne noircit pas.

Sérums agglutinants spécifiques : ce n'est parfois qu'après quatre ou cinq passages successifs par milieux artificiels (gélose inclinée) que le germe isolé est agglutiné par le sérum correspondant.

L'agglutination n'a de valeur diagnostique que recherchée à un taux suffisamment élevé, à partir du 1/100^e.

Le germe à identifier peut être agglutiné et par un sérum antityphique et par un sérum antiparatyphique *A* et *B* ; dans le cas d'agglutination double ou triple, il est nécessaire de recourir à la saturation des agglutinines. En général, l'agglutination du germe par les coagglutinines d'un sérum ne s'obtient pas à un taux aussi élevé que par les agglutinines spécifiques.

Recherche des Bactéries pathogènes dans le sang circulant.

L'hémoculture doit être faite avec des précautions d'asepsie *bactériologique*. La désinfection de la peau est parfois difficile par simple lavage à l'éther ou par application de teinture d'iode, il est plus sûr de faire une pointe de feu superficielle au niveau de la veine où doit pénétrer l'aiguille.

La seringue ainsi que l'aiguille doivent être stérilisées à l'autoclave ; pour éviter que l'aiguille ne rouille, cette stérilisation peut se faire dans un tube contenant à la partie inférieure un petit tampon d'ouate que l'on aura imbibé de 1 à 2 cm³ d'alcool à 90°, la stérilisation de l'instrument a donc lieu dans une atmosphère d'alcool sans excès de vapeur d'eau. On peut aussi stériliser la seringue dans un tube contenant une solution de borate de soude à 10 %.

Suivant les germes que l'on cherche à isoler, il faut ensemençer le sang dans des milieux différents :

Fièvre typhoïde. — Un excellent moyen pour l'isolement des Bacilles typhiques et paratyphiques est la bile de bœuf stérile. En général on obtient une culture (douze à vingt-quatre heures à 37°) en ensemençant 2 cm³ de sang dans 3 cm³ de bile.

Au début de la maladie et au déclin de la période fébrile, alors qu'il y a peu de germes dans le sang, il sera nécessaire d'ensemencer plus largement : 10 à 15 cm³ de sang dans 15 à 20 cm³ de bile ; on peut aussi, dans ce cas, peptoner à 2 % la bile de bœuf.

Si le microbe isolé par l'hémoculture n'est pas le Bacille typhique ou un Bacille paratyphique, l'isolement des Bactéries des matières fécales doit toujours être pratiqué.

Autres bactériémies. — Pour isoler du sang d'autres germes pathogènes, on ensemence dans le bouillon nutritif ordinaire (10 à 20 cm³ de sang dans 200 cm³) ; la culture est positive souvent après vingt-quatre heures, quelquefois après quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°.

L'hémoculture peut être obtenue en un temps beaucoup moindre, si l'on ensemence le sang dans le milieu panse-foie de L. MARTIN, milieu excellent pour la plupart des germes (10 cm³ de sang dans 40 cm³ de panse-foie). Avec ce milieu il est nécessaire de repiquer la culture assez rapidement (formation d'acide).

Note sur le diagnostic de la fièvre typhoïde (20 mai 1914).

Mon attention a été attirée sur le fait que certaines épidémies ont été attribuées à la fièvre paratyphoïde en prenant simplement pour base les résultats du séro-diagnostic. Or, le diagnostic de cette affection ne peut être établi d'une manière certaine, qu'après hémoculture, etc.

Signé : TROUSSAINT.

BIBLIOGRAPHIE

1. CHARRIN et ROGER. — Note sur le développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. (*C. R. Soc. Biol.*, 1889, série 9, t. I.)
2. METCHNIKOFF (El.). — Études sur l'immunité. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1891, p. 473.)
3. ISAEFF et IVANOFF. — Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le Pneumocoque. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1893, p. 260.)
4. METCHNIKOFF (El.). — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892, p. 78-80.
5. BORDET. — Sur le mode d'action des sérums préventifs. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1896, t. X, p. 193.)
6. WIDAL et SICARD. — La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 187.)
7. GRÜBER et DÜRRHAM. — Eine neue Methode zur raschen Erkennung der Cholera vibrio und des Typhusbazillus. (*Munch. med. Woch.*, 31 mars 1896.)
8. CASTELLANI. — Die Agglutination bei gemischte Infektion. (*Zeitsch. f. Hyg.*, t. L, p. 1.)
9. ARRHENIUS (S.). — Zur physikalischen Chemie der Agglutinine. (*Zeitsch. f. physik. Chemie*, t. XLVI, p. 415.)
10. SACQUÉPÉE (E.). — Variabilité de l'aptitude agglutinative du Bacille d'Eberth. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1901, t. XV, p. 248.)
11. NICOLLE (Ch.). — Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XVIII, p. 208.)
12. RÉNON. — Nécessité d'examiner les cultures avant l'addition du sérum dans la recherche de la réaction de Widal. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 118.)
13. NICOLLE (Ch.). — L'agglutination spontanée des cultures, ses rap-

- ports avec l'agglutination par les sérums. (*C. R. Soc. Biol.*, 1898, t. L, p. 1054.)
14. LAFFORGUE. — Quelques remarques à propos d'un Bacille alcaligène dans une infection typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*, 1908, t. LXV, p. 108.)
 15. RUFUS J. COLE. — Ueber die Agglutination verschiedener Typhusstämmes. (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1904, t. XLVI, p. 367.)
 16. RÉMY. — Sur l'Eberth inagglutinant des eaux. (*Ann. Inst. Pasteur*, p. 145, 1901.)
 17. RODET. — Sur la propriété agglutinative à l'égard du Bacille coli et du Bacille d'Eberth de sérums d'animaux immunisés contre ces microbes. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 874.)
 18. VAN DEN VELDE. — Pouvoir agglutinant d'un sérum de cheval vacciné contre la fièvre typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 882.)
 19. NICOLLE (Ch.). — Recherches sur la substance agglutinée. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1898, t. XII, p. 161.)
 20. SACQUÉPÉE. — Variabilité de l'aptitude agglutinative du Bacille d'Eberth. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1901, t. XV, p. 248.)
 21. NICOLLE et TRENEL. — Recherches sur le phénomène de l'agglutination. — Variabilité de l'aptitude agglutinative et de la fonction agglutinogène. Leurs relations entre elles, leur rapport avec la mobilité des microbes. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1902, t. XVI, p. 562.)
 22. CAMBIER. — *Revue d'Hygiène*, janvier 1902.
 23. SACQUÉPÉE. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901 (Voir n° 20).
 24. COURMONT. — Répartition de la substance agglutinante dans l'organisme des typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 194.)
 25. LESIEUR. — Rapports entre l'agglutinabilité et la mobilité des Bacilles d'Eberth. (*Journ. Phys. et Pathol. gén.*, 1903, t. V, p. 539.)
 26. SEHRWALD. — Steigerung der Agglutinirbarkeit der Typhusbazillen und ihr Wert für die Typhusdiagnose. (*Deutsch. med. Woch.*, 1905, p. 261.)
 27. COURMONT. — *Journal de Pathologie et Physiologie générales*, janvier 1902.
 28. HILGERMANN. — Zum Ausbau der Grüber-Widal'schen Reaktion. (*Klin. Jahr.*, t. XVIII, p. 360.)
 29. HUGO ROBITCHEK et D. NATONEK. — Ueber Unterschiede in den biologischen Eigenschaften der Typhusbazillen. (*Centr. f. Bakt.*; 1905, I. Orig., t. LXIX, p. 241.)

30. LAFFORGUE. — Quelques remarques à propos d'un Bacille alcalinigène dans une infection typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*, 1908, t. LXV, p. 108.)
31. HIRSHBRÜCK. — Diminution expérimentale de l'agglutinabilité chez le Bacille typhique. (*Arch. f. Hyg.*, t. LVI, f. 3, p. 280.)
32. EUGLING (M.) et GRASSBERGER (R.). — Zur Kenntniss der inagglutinablen Typhusstämme. (*Wien. klin. Woch.*, 1908, t. XVI, p. 510.)
33. MALVOZ (E.). — Recherches sur l'agglutination du *Bacillus typhosus* par des substances chimiques. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1897, t. XI, p. 582.)
34. SARTORY (A.) et LASSEUR (Ph.). — Le citrate de soude et l'agglutination du Bacille typhique. (*C. R. Soc. Biol.*, janv. 1915, t. LXXVIII, p. 36.)
35. SADLER. — Ueber den Einfluss des Temperaturoptimum von 55° C. auf die Agglutination beim Fickerschen und Widal'schen Versuchen (*Berlin. klin. Woch.*, 1905, p. 255.)
36. VENEMA (T.-A.). — Ueber das Temperaturoptimum bei der mikroskopischen Grüber-Widal'schen Reaktion. (*Hyg. Rundsch.*, 1909, n° 2.)
37. ARMENGAUD. — Tuberculose miliaire; séro-réaction de Widal positive. (*Rev. intern. Méd. et Chir.*, 1911, p. 19.)
38. GILBERT et LIPPMANN. — Del'ictère catarrhal d'origine éberthienne. (*C. R. Soc. Biol.*, 1914, t. LVI, p. 137.)
39. ZEVI-VITTORIO. — Ueber die Grüber-Widal'sche Reaktion bei Ikterus. (*Wien. klin. Woch.*, 1904, t. XVIII, p. 861.)
40. DOMBROWSKY. — Ueber die Widal'sche Reaktion und deren praktische Bedeutung. (*Hyg. Rundsch.*, 1903, t. XIII, p. 209.)
41. ALTSCHULER (E.). — Ueber die Beziehungen des *Bacillus fæcalis alcaligenes* zu den Typhusbazillen. (*Münch. med. Woch.*, t. LI, p. 868.)
42. JOCHMANN (G.). — Mischinfektion des Blutes mit Proteusbazillen und Streptokokken zugleich ein Beitrag zur Mitagglutination von Typhusbazillen bei Proteusinfektion. (*Zeitsch. f. klin. Med.*, t. XLVII, p. 27.)
43. IVERSEN (G.). — Ueber die Schwankungen des Agglutinationsvermögens des Serums im Verlaufe des Typhusabdominalis. (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1905, t. XLIX, p. 1.)
44. DENNEMARK. — Die Grüber-Widal'sche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker. (*Centr. f. Bakt.*, I. Orig., t. LIV, p. 374.)

45. KRENCKER (Ernest). — Typhusagglutination bei Tuberkulose. (*Mänch. med. Woch.*, 1909, t. LVI, p. 1016.)
46. NÈGRE (L.). — Sur le double pouvoir agglutinant vis-à-vis de l'Eberth et du *Melitensis* du sérum de certains malades. (*C. R. Soc. Biol.*, 24 déc. 1910, p. 361.)
47. LOELE (W.). — Ueber das Verhalten von Blutserum nicht an typhusverstorbenen Personen gegenüber der Widal'schen Reaktion. (*Centr. f. Bakt.*, 1909, I. Orig., t. XLIX, p. 629.)
48. WIDAL et SICARD. — Différenciation du Bacille typhique et du Bacille de la psittacose par la réaction agglutinante, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, 1896, t. XLVIII, p. 9991.)
49. KREISSEL. — Klinische Erfahrungen über die Grüber-Widal'sche Reaktion. (*Wien. klin. Woch.*, 1904, t. XVII, p. 119.)
50. KRAUSS. — Ein Beitrag zur Kenntniss von der Dauer des Bestehen der Widal'schen Reaktion nach überstandem Typhus. (*Centr. f. Bakt.*, 1904, I. Orig., t. XXXVI, p. 121.)
51. RUEDIGER. — Improved technic of agglutination test in typhoid fever. The use for formalinized cultures. (*Journ. of Infect. disease.* 1904, t. I, p. 236.)
52. W. HALLOCK PARK. — Some observations upon the agglutination of Bacteria. (*Journ. of Infect disease*, févr. 1906, supp. n° 2, p. 1-9.)
53. HAYO BRUNS et H. KAYSER. — Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationphenomen zur klinischen Diagnose und zur Identifizierung von Bakterien der Typhuscoligruppe (Paratyphus usw). (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1903, t. XLIII, p. 402.)
54. JÜRGENS. — Zur ætiologischen Diagnose des Abdominalistypus. (*Deutsch. med. Woch.*, 1904, p. 1233.)
55. DE BLASI et BERARDINI (L.). — Ricerche alle agglutinine del tifo. (*Ann. Ig. Sper.*, 1903, t. XIII, p. 592.)
56. CERRITO (A.). — Intorno alla tecnica della serodiagnosi del tifo. (*Ann. Ig. Sper.*, 1904, t. XIV, f. 3, p. 405.)
57. DE BLASI (D.). — Sopra alcune cause d'errore nella serodiagnosi. (*Boll. de Soc. Lamisiana de osped. di Roma*, 1906, t. XXV, f. 5, p. 7.)
58. WASSERMANN (A.). — Ueber Agglutinine und Praecipitine. (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1903, t. XLII, p. 261 à 292.)
59. BESSON. — *Technique microbiologique et sérothérapique*, 886 p. 1914. Paris, Baillière.
60. FICKER. — Ueber ein Typhusdiagnostikum. (*Berl. klin. Woch.*, 1903, n° 45, p. 1021.)

61. EHRSAM. — Ueber das Fickersche Typhusdiagnostikum. (*Münch. med. Woch.*, 1904, t. LI, p. 662.)
62. MEYER (J.). — Ueber das Fickersche Typhusdiagnostikum. (*Berl. klin. Woch.*, 1904, n° 7, p. 166.)
63. RADZIKOWSKY. — Ueber das sogen. Typhusdiagnostikum. (*Wien. klin. Woch.*, t. XVII, 1904, p. 276.)
64. ALEXANDER SKUTEZKY. — Ueber den Wert des Fickerschen Typhusdiagnostikum vergleiche zur ursprünglichen Grüber-Widal'sche Reaktion. (*Zeitsch. f. Heilk.*, 1904, t. XXV, p. 253.)
65. VAN LGGHEM. — Aetiologische Diagnostiele van Typhus an Paratyphus. (*Nederl. Tydschr. voor. Geneesk.*, 1907, série 2, p. 915.)
66. TRIBONDEAU (L.). — Note sur le séro-diagnostic par les cultures mortes de bacilles typhiques. (Réunion biologique de Bordeaux, janvier 1908. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVI, p. 93.)
67. DREYER (G.). — Widal's reaction with sterilised cultures. (*Journ. of Pathol. and Bacter.*, 1909, t. XIII, p. 331.)
68. AASSER (P.). — Ueber die Makroskopische Agglutinationsprobe bei Typhoidfieber. (*Berl. klin. Woch.*, 1905, p. 256.)
69. GINO DE ROSSI. — Ueber die Zubereitung haltbarer Kulturen für den serodiagnostischen Versuch. (*Centr. f. Bakt.*, janv. 1916, I. Orig., t. XI, p. 426.)
70. STASSANO (H.) et LEMATTE (L.). — Nouvelle méthode de séro-diagnostic des affections typhiques et paratyphiques avec des émulsions de bacilles tués par les rayons ultra-violets. (*Soc. Méd. Paris*, avril 1914.)
71. RIGHI (A.). — Su alcune modalità dell' agglutinazione del bacillo di Eberth. (*Riv. di. Ig. e di San. publ.*, mai 1910, t. XXI, n° 10, p. 292.)
72. WIDAL et SICARD. — La réaction agglutinante comparée chez les typhiques pendant l'infection et l'immunité. (*C. R. Soc. Biol.*, 1893, t. XLVIII, p. 1073.)
73. COURMONT (P.). — Deux cent quarante cas de séro-diagnostic chez les typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 528.)
74. GAETHGENS-WALTER. — Erfahrungen über den Wert der Grüber-Widal'schen Reaktion für die Typhusdiagnose. (*Arbeit. a. d. Kais. Gesundheitsch.*, 1907, t. XXVI, p. 226.)
75. JÜRGENS (J.). — Beobachtungen über die Widal'sche Reaktion und die Mitagglutination der Typhoidbazillen. (*Zeitsch. f. Hyg.*, t. LIII, p. 372, 400.)
76. ZEVİ-VITTORIO. — Ueber die Grüber-Widal'sche Reaktion bei Ikterus. (*Wien. klin. Woch.*, 1904, t. XVIII, p. 861.)
77. NICOLLE et CATHOIRE. — Existence en Tunisie des infections para-

- typhiques. — Pouvoir agglutinant du sang des malades, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, févr. 1906, t. LX, p. 328.)
78. SCHATULERN. — De la bactériémie typhique et ses rapports avec le pouvoir agglutinant du sérum au cours de la fièvre typhoïde. (*Rousski Wratch.*, 10/23 mars 1907.)
79. EBELING. — Ueber das Vorkommen von Typhusbazillen und Blute eines « gesunden » Bazillenträgers. (*Berl. klin. Woch.*, avril 1914, p. 689.)
80. WEINBERG. — Recherche de la séro-réaction chez les anciens typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 905.)
81. COURMONT (P.). — La courbe du pouvoir agglutinant chez les typhiques. — Application au séro-pronostic. (*C. R. Soc. Biol.*, 1897, t. XLIX, p. 776.)
82. KREISSEL (R.). — Klinische Erfahrungen über die Grüber-Widal'sche Reaktion. (*Wien. klin. Woch.*, 1904, t. XVII, p. 119.)
83. CASTELLANI. (Voir n° 8.)
84. BIRT (C.). — Typhoid and paratyphoid fevers. (*Journ. Roy. Army med. corps*, août 1907, t. IX, n° 2, p. 131.)
85. JÜRGENS (J.). — Zur ätiologischen Diagnose des Abdominaltyphus. (*Deutsch. med. Woch.*, 1904, p. 1233.)
86. KONRICH. — Eine Paratyphusepidemie in einem Krankenhause. (*Klin. Jahrb.*, 1909, p. 247.)
87. NETTER (A.) et RIBADEAU-DUMAS. — Note sur les infections paratyphoïdes. (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LIX, p. 18-25.)
88. GAETHGENS-WALTER. (Voir n° 74.)
89. MANTEUFEL (P.). — Erfahrungen mit der Grüber-Widal'schen Reaktion bei Berücksichtigung der Mitagglutination von Paratyphusbazillen. (*Munch. med. Woch.*, 1905, t. LII, p. 1329.)
90. GRÜNBERG et ROLLY. — Beitrag zur Frage der agglutinierenden Eigenschaften des Serums Typhuskranker auf Paratyphus und verwandte Bakterien. (*Munch. med. Woch.*, 1905, t. LII, p. 105.)
91. ABRAMI (P.). — Étude sur les coagglutinations des typho-paratyphiques. (*Journ. Phys. et Pathol. gén.*, mars 1907, p. 290.)
92. RIEUX et SACQUÉPÉE. — Valeur de la saturation dans le diagnostic des agglutinines typhiques et paratyphiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LIX, p. 653.)
93. HALLOCK PARK. — Some observations upon the agglutination of Bacteria. (*Journ. of Infect. disease*, févr. 1906, supp. 2, p. 1-9.)
94. SACQUÉPÉE et CHEVREL. — Notes chimiques sur les infections paratyphiques. — Les procédés de diagnostic. (*Bull. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 1905, p. 897 et 980.)

95. KENTZLER et BENEZUR (J.). — Agglutination bei Mischinfektion. (*Centr. f. Bakt.*, I. Orig., t. XLVII, p. 263.)
96. CARNOT et WEIL-HALLÉ. — *Presse médicale*, 25 mars 1915, n° 12, p. 89.
97. WEBER (Arth.). — Ueber den Nachweis von Typhusbazillen im gallenhaltigen Mageninhalt. (*Münch. med. Woch.*, 1908, t. LV, p. 2443.)
98. KIRALYFI (G.). — Die bakteriologische und chemische Untermischung der Galle « in vivo » diagnostisches Verfahren in der Frühdiagnose des Typhusabdominalis. (*Berl. klin. Woch.*, oct. 1912, p. 1985.)
99. CONRADI (H.). — Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. (*Centr. f. Bakt.*, 1910, I. Orig., t. LVI, p. 394.)
100. KAYSER (H.). — Weiteres über die Verwendung der Typhusgalleröhre zur Blutkultur. (*Münch. med. Woch.*, 1906, t. LIII, p. 1953.)
101. TZEIDLER. — Contribution à l'étude de la bactériémie au cours de la fièvre typhoïde. (*Rousski Wratch*, 10/13 mars 1907, p. 332.)
102. SHTULERN (W.-R.). — De la bactériémie typhique et ses rapports avec le pouvoir agglutinant du sérum au cours de la fièvre typhoïde. (*Rousski Wratch*, 10/23 mars 1907, p. 433.)
103. KESSLER. — Ueber die Methoden des Nachweises der Typhusbazillen im Blute. (*Centr. f. Bakt.*, 1907, I. Orig., t. LX, p. 602.)
104. COURMONT. — De l'Hémoculture. (*Soc. Méd. Hôp.*, déc. 1901. *Journ. Phys. et Path.*, janv. 1902.)
105. BETTENCOURT (N.) et REGALLA GARCIA. — L'Hémoculture en bile dans le diagnostic de la fièvre typhoïde. (*Arch. Inst. Bact. Camara-Pestana*, t. II, f. I, p. 95-107.)
106. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et J. LECLERCQ. — Recherche du bacille typhique et des bacilles paratyphiques dans le sang. (*Paris méd.*, juill. 1915.)
107. GILDEMEISTER. — Ueber den Nachweis der Typhusbazillen im Blute mittels der Gallenanreicherung. (*Hyg. Rundsch.*, avril 1907, t. XVII, p. 397.)
108. MEYERSTEIN. — Ueber Typhus Anreicherung. (*Münch. med. Woch.*, 1906, t. LIII, p. 1864.)
109. DÜNSCHMANN (H.). — Études sur la fièvre typhoïde. (*Ann. Inst. Past.*, 1909, t. XXIII, p. 29.)
110. S.-L. CUMMINS et C.-C. CUMMING. — A simple method of blood culture in enteric fever. (*Journ. Roy. Army med. corps*, 1910, t. XIV, p. 611.)
111. ORTICONI. — *Société de Biologie*, 15 mai 1915, t. LXXVII, n° 9.

112. CHEVREL et SACQUÉPÉE. — Notes cliniques et étiologiques sur les infections paratyphiques. — Les procédés de diagnostic. (*Bull. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 1905, p. 897-980.)
113. E. SACQUÉPÉE et CHEVREL. — Les infections paratyphoïdes dans l'Ouest de la France. (*Presse méd.*, 26 août 1905.)
114. KORTE et STEINBERG. — Ueber die Agglutinationwirkung des Serums-Typhus-Kranken auf Typhusbazillen nebst Bemerkungen über makroskopische und mikroskopische Serodiagnostik. (*Münch. med. Woch.*, 1905, t. LII, p. 985.)
115. RIEUX et SACQUÉPÉE. — Agglutination et coagglutination des Bacilles paratyphiques et typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LIX, p. 536.)
116. GRÜNBERG et ROLLY (Voir n° 90.)
117. MANDELBAUM. — Ueber das Bakterium Metatyphi. (*Centr. f. Bakt.*, 1904, I. Orig., t. LXIII, p. 96.)
118. A. NIETER. — Zur Metatyphus Frage. (*Münch. med. Woch.*, 28 avril 1908, t. LV, p. 898.)
119. MAROTTE (A.). — Un nouveau cas de fièvre typhoïde à Bacille intermédiaire. (*Progrès méd.*, 1909, n° 28, p. 358.)
120. LINGELSHEIM. — Zur Frage der Variation der Typhusbazillen und verwandter Gruppen. (*Centr. f. Bakt.*, 1913, I. Orig., t. LXVIII, f. 7, p. 577.)
121. GUERBET et HENRY. — Note sur un Bacille paratyphique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1905, t. LIX, p. 458.)
122. FAROY (F.). — Isolement et étude d'un Bacille intermédiaire au Bacille d'Eberth et au paratyphique A de Bryon et Kayser. (*C. R. Soc. Biol.*, 1908, t. LXIV, p. 1903.)
123. WIENS. — Zur Kasuistik der Kolibaktäriemic. (*Münch. med. Woch.*, 1909, t. LVI, p. 962.)
124. Christian SCHÖNE. — Ueber Infektionen Paratyphusbazillen des Typhus A und Befunde von verwandten Bakterien. (*Zeitsch. f. Hyg.*, 1910, t. LXV, f. 1, p. 1.)
125. A. SARTORY, L. SPILLMANN et Ph. LASSEUR. — De la présence d'un Microcoque dans le sang d'individus suspects de fièvre typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*, avril 1915.)
126. OETTINGER et FIESSINGER. — Des formes typhoïdes de certaines septicémies diplococciques. (*Arch. Méd. exp. et path.*, 1907, t. XIX, p. 468.)
127. ROGGI (G.). — Su alcune infezioni tifosimili. (*Gaz. degli Ospedali*, 1907, n° 87.)
128. LAGRIFOUL, BOUSQUET et ROGER. — La typhopyocyanie (pyocyanie

- généralisée à forme typhoïde). (*C. R. Soc. Biol.*, 1910, t. LXVIII, p. 1019.)
129. PATRICK. — Remarqs on typhoid bacilluria with a description of certain a tyfical colityphoid bacilli found in the urine in enteric fever. (*Journ. of Pathol. and Bacter.*, 1914, t. XVIII, p. 365.)
 130. SICRE (A.) et DOMENG. — Fièvre paratyphoïde du type A à évolution particulière. (*Arch. Inst. Tunis*, 1907, fasc. 3, p. 123.)
 131. SAMUT (R.). — Paratyphoid simulating Malta Fever. (*Journ. Roy. Army med. corps*, t. XIII, f. 3, p. 297.)
 132. BABES (V.) et FEODORASCO (C.). — Les associations des microbes du groupe coli dans certaines maladies présentant un caractère typhique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1909, t. LXVI, p. 644.)
 133. GLATARD et MAROTTE. — Fièvre typhoïde à Bacille du groupe intermédiaire ayant évolué comme un pseudotyphus. (*Bull. Soc. méd. des Hôp. de Paris*, 1909, p. 152.)
 134. SACQUÉPÉE et LANGLET. — Quelques observations de scepticémie double à Étragène et Diplocoque (Entérocoque). (*Journ. des Prat.*, 10 juill. 1915, n° 28, p. 446.)
 135. VINCENT. — Sur les résultats expérimentaux de l'association du Streptocoque et du Bacille typhique. (*C. R. Soc. Biol.*, 1892, t. XLIV, p. 597.)
 136. KURPJUWEIT (O.). — Ueber den Nachweis von Typhusbazillen in Blutgerinnnsehn. (*Arb. a. d. Kais. Gesundsch.*, 1907, t. XXV, f. 1.)
 137. LÉON BLUM. — Valeur des méthodes de laboratoire dans le diagnostic de la fièvre typhoïde. (*Sem. méd.*, 11 sept. 1907, t. XXVII, p. 433.)
 138. GAETHGENS-WALTER. — Ueber die bakteriologische Typhusdiagnose auf Grund von neueren in der praktischen Typhusbekämpfung gesammelten Erfahrungen. (*Berl. klin. Woch.*, 1912, p. 296.)
 139. STATHAM (J.-C.-B.). — The diagnosis of Typhoid and paratyphoid fever by means of cultures taken from the blood in theases de-seases. (*Journ. Roy. Army med. corps*, sept. 1907, t. IX, n° 3, p. 226.)
 140. KONRICH. (Voir 86.)
 141. ROUSSEL (L.). — Le diagnostic des infections à forme typhoïde. (*Bull. Soc. méd. Alger*, 28 mai 1913, p. 103.)
 142. EPSTEIN (A.-A.). — Blood cultures in typhoid fever. (*Proc. of the New-York path. Soc.*, 1908, t. VIII, f. 1 et 2, p. 1 à 7.)
 143. SASKI (St.). — Ergebnisse der bakteriologischen Blutuntersuchung in 50 Fallen von Abdominaltyphus. (*Zeitsch. f. klin. Med.*, 1908, t. LXXX, f. 1 et 2, p. 79.)

- 144. COLEMAN et BUXTON. — The bacteriology of the blood in typhoid fever ; a report of sixty cases, and a statistical study. (*New-York path. Soc.*, févr. 1904, t. IV.)
 - 145. CONRADI (H.). — Zur bakteriologischen Frühdiagnose des Typhus. (*Münch. med. Woch.*, 1906, t. LIII, p. 2386.)
 - 146. SARTORY et LASSEUR. — Les états typhoïdes et paratyphoïdes (Études bactériologiques). (*Soc. Méd. Nancy*, mars 1915.)
 - 147. POLGUÈRE. — Des infections secondaires dans la fièvre typhoïde. Thèse, Paris 1888.
 - 148. WASSERMANN (A.). — Beitrag zur Lehre vom Typhusabdominalis. (Charité, Ann. 19, 1894.)
 - 149. LOISON, SIMONIN et ARNAUD. — Essais d'interprétation pathogénique de la fièvre typhoïde. (*Rev. Méd.*, 1893, p. 257.)
 - 150. BRUNEAU. — De la nature des complications bronchopulmonaires dans la fièvre typhoïde. Thèse, Paris 1896.
 - 151. SPILLMANN. — Les associations microbiennes et les infections mixtes. (Rapp. Cong. Méd. Montpellier, avril 1898.)
 - 152. Ch. DOPTER et SACQUÉPÉE. — *Précis de Bactériologie*, 938 p. 1914. Paris, Baillière.
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	Pages v
------------------------	------------

CHAPITRE I

DE L'AGGLUTINATION

Historique	1
Principe de l'agglutination	3
Des agglutinines	4
Amas spontanés	6
Émulsions de Bacilles	7
Présence d'un voile	7
Agglutinabilité du Bacille	8
Influence de la température sur la séro-réaction	13
Taux d'agglutination	14
Phénomène paradoxal	16

CHAPITRE II

TECHNIQUE DE L'AGGLUTINATION

Procédé rapide	19
Procédé lent	22
Agglutination par les Bacilles morts	23
Apparition des agglutinines	25
De la coagglutination	27
Infections surajoutées	31

CHAPITRE III

BILICULTURE — COPROCULTURE — HÉMOCULTURE

	Pages
Biliculture.	33
Coproculture.	34
Hémoculture.	35
Technique.	36
Tableau indiquant la technique de l'hémoculture	41
Tableau des caractères différentiels des Bacilles typhiques, paratyphiques et Colibacilles.	42
Étude des principaux milieux.	43

CHAPITRE IV

ÉTUDE DES BACILLES PARATYPHIQUES

Bacilles paratyphiques.	50
Relations d'agglutination.	54
1 ^o Sérums normaux.	54
2 ^o Sérums typhiques sur Bacilles paratyphiques.	54
Sujets vaccinés.	56

CHAPITRE V

CONSTATATIONS NOUVELLES AU COURS DE LA CAMPAGNE

Étude d'une espèce nouvelle : <i>Micrococcus paratyphoideus</i> SARTORY et LASSEUR.	60
Associations	62
CONCLUSIONS	69

APPENDICE

Circulaire du 4 novembre 1915 sur la recherche des Bactéries pathogènes dans les matières fécales.	71
Identification du Bacille typhique, des Bacilles paratyphiques et du Bacille coli	72
Recherche des Bactéries pathogènes dans le sang circulant.	74
Note sur le diagnostic de la fièvre typhoïde	75
BIBLIOGRAPHIE	77

